

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON
- MEDECINE -
U. E. R. ALEXIS-CARREL

Année 1978 - N° 193

**VARIATIONS D'EFFICACITE
DES ANTIBIOTIQUES
EN FONCTION DU pH URINAIRE.
ETUDE DES QUINOLONES IN VITRO.**

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 29 Mai 1978

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Nicole SCHMÜCK

née le 3 Mars 1945

à LYON 6° (Rhône)



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554220_0017

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON
- MEDECINE -
U. E. R. ALEXIS-CARREL

Année 1978 - N° 193

**VARIATIONS D'EFFICACITE
DES ANTIBIOTIQUES
EN FONCTION DU pH URINAIRE.
ETUDE DES QUINOLONES IN VITRO.**

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON
et soutenue publiquement le 29 Mai 1978
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Nicole SCHMÜCK

née le 3 Mars 1945

à LYON 6° (Rhône)

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON
- MEDICINE -
M. E. R. ALBERT-CARRIET
Série 102 - 10 20

VARIATIONS D'EFFICACITE
DES ANTIBIOTIQUES
EN FONCTION DU PH URINAIRE.
ETUDE DES QUINOLONES IN VITRO.



THÈSE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 29 mai 1970

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Nicole SCHMÜCK

née le 5 Mars 1945

à LYON 5^e (Rhône)

— UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON I —

Président de l'Université	M. le Professeur D. GERMAIN
Vice Président	M. le Professeur E. ELBAZ
Deuxième Vice Président	M. B. ROUSSET
Troisième Vice Président	M. R. LOPEZ
Secrétaire Général	M. RAMBAUD

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DE L'UNIVERSITE :

Médecine : GRANGE BLANCHE	M. le Docteur B. SALLE (MCA)
ALEXIS CARREL	M. le Professeur R. MORNEX
SUD-OUEST	M. le Professeur J. NORMAND
LYON NORD	Directeur : M. le Docteur J.P. NEIDHARDT
	Directeur honoraire : M. le Professeur A. BERTOYE
Biologie Humaine	M. le Docteur J.P. REVILLARD (MCA)
Techniques de Réadaptation	M. le Docteur A. MORGON (MCA)
Sciences Pharmaceutiques	M. le Professeur BIZOLLON
Sciences Odontologiques	M. le Docteur R. VINCENT
Institut régional d'éducation physique et sportive ..	Président du conseil d'UER : M. le Professeur
	R. GUILLET,
	Directeur M. A. MILLON
Mathématiques	M. le Professeur E. COMBET
Physique	M. le Professeur J. DELMAU
Chimie et Biochimie	M. le Professeur J. HUET
Sciences de la Nature	M. le Professeur R. GINET
Sciences Physiologiques	M. le Professeur J.F. WORBE
Institut Universitaire et Technologie n°1	M. le Professeur B. POUYET
Institut Universitaire et Technologie n°2	M. J. GALLET (Directeur ENSAM)
Observatoire	M. M. MONNET (Astronome Adjoint)
Physique Nucléaire	M. le Professeur GUSAKOW
Mécanique	M. le Professeur G. COMPTE-BELLOT.



EXAMINATEURS DE LA THESE :

Président : Professeur B. FRANCOIS

Assesseurs : Professeur FLEURETTE

Professeur MONNIER

Professeur BERTHEZENE

A mon Père et à ma Mère,

qui par leur conception
de la Vie et de la Médecine
m'ont tant aidée à réaliser
un rêve qui m'était cher.

En témoignage de mon affection.

A l'Amitié, A la Vie,

ET UN SOURIRE

La nuit n'est jamais complète
Il y a toujours puisque je le dis
Puisque je l'affirme
Au bout du chagrin une fenêtre ouverte
Une fenêtre éclairée
Un coeur généreux
Une main tenue une main ouverte
Des yeux attentifs
Une vie la vie à se partager

Paul Eluard

A Monsieur le Professeur Bernard FRANÇOIS

qui nous a guidé dans ce travail qu'il a inspiré et
nous fait l'honneur d'accepter la présidence de cette
thèse.

A Monsieur le Professeur FLEURETTE

qui a bien voulu nous accorder sa confiance et nous
faire bénéficier de ses connaissances.

A Monsieur le Professeur MONNIER

qui nous a toujours conseillé et permis de mener
à bien ce travail expérimental.

A Monsieur le Professeur BERTHEZENE

qui nous a enseigné lors de nos premières armes
hospitalières et a bien voulu participer à ce
Jury de thèse.

Qu'ils trouvent ici l'expression de notre profonde reconnaissance

A Madame DAVOINE

Technicienne à l'Institut Pasteur de Lyon,
Laboratoire de Bactériologie de l'Hopital
de l'Antiquaille (Pr. Ag. Monnier et Dr Gille)

qui a consacré de nombreuses journées à la mise au point
et à la réalisation de nos expériences.

Nous la remercions de sa sympathique participation.

A Monsieur le Docteur ALIBERT

Médecin-Chef du Service de Pédiatrie

A Monsieur le Docteur BOURDON

Médecin-Chef du Service de Pneumo-Phtisiologie

A Monsieur le Docteur GUIBE

Médecin-Chef du Service de Médecine

A Monsieur le Docteur SESBOUE

Chef du Service de Chirurgie

qui ont su nous faire profiter de leurs expériences au cours
des mois passés dans leurs services de l'Hopital Memorial
de SAINT-LO.

Qu'ils trouvent ici le témoignage de notre sincère gratitude.

VARIATIONS D'EFFICACITE DES ANTIBIOTIQUES

EN FONCTION DU pH URINAIRE

ETUDE DES QUINOLONES IN VITRO

Travail de l'Institut Pasteur de LYON, Laboratoire
de Bactériologie de l'Hôpital de l'Antiquaille,
(Pr. Ag. MONNIER et Dr. GILLE), et de l'Unité
de Néphrologie et d'Hypertension artérielle,
Hôpital de l'Antiquaille (Pr. B. FRANCOIS)

P L A N

- <u>INTRODUCTION</u>	page 1
- <u>PREMIERE PARTIE</u>	page 5
Variations d'efficacité selon le pH urinaire des antibiotiques et antiseptiques autres que les Quinolones. Données de la littérature.	
- <u>DEUXIEME PARTIE</u>	
Variations d'efficacité selon le pH urinaire des Quinolones.	
<u>Chapitre 1</u> : Méthodes et matériel d'étude	page 64
<u>Chapitre 2</u> : Résultats	page 72
- <u>TROISIEME PARTIE</u>	
Interprétation, Commentaires et Discussion	page 101
- <u>CONCLUSIONS</u>	page 122
- <u>BIBLIOGRAPHIE</u>	
- <u>TABLEAUX ET FIGURES</u>	

I N T R O D U C T I O N

L'activité antibactérienne in vitro étudiée en pratique courante, n'a d'intérêt clinique que dans la mesure où il n'y a pas de différence de nature entre l'action des antibiotiques in vitro et in vivo. Le parallélisme de ces deux actions n'est pas toujours évident à établir en raison de nombreux facteurs susceptibles de faire varier ces actions. Le sujet de cette thèse concernera plus particulièrement l'un de ces facteurs : le pH urinaire. L'influence du pH du milieu sur l'efficacité de la chimiothérapie antibactérienne est un fait bien connu, mais insuffisamment exploité dans la thérapeutique quotidienne des infections urinaires. Celle-ci est en effet souvent décevante et il n'est pas rare d'observer des résultats discordants entre l'antibiogramme in vitro et les résultats cliniques. Le milieu urinaire peut avoir un pH très variable, contrairement aux autres milieux de l'organisme.

La première partie de cet ouvrage a consisté à réunir toutes les données bibliographiques traitant de ce sujet en présentant des tableaux récapitulatifs de leurs activités bacteriostatique et bactericide, in vitro et in vivo, selon le pH urinaire.

En second lieu, nous nous sommes proposés de rechercher les variations d'efficacité thérapeutique, en fonction du pH, de trois Quinolones : L'Acide Nalidixique ou NEGRAM^r, l'Acide Pipemidique ou PIPRAM^r, l'Acide Oxolinique ou UROTRATE^r, trois antibactériens bactéricides et à forte concentration urinaire. Pour cela, nous nous sommes fondés sur l'étude in vitro de l'activité bactériostatique et bactericide de ces trois produits. Après cela, nous ferons une comparaison des résultats réunis dans la littérature et ceux trouvés au cours de nos expériences.

Qu'il nous soit permis de faire, en guise de prologue, un bref rappel bactériologique à propos de ces deux modalités de l'action antibactérienne. In vitro, il est facile

d'observer l'activité des antibiotiques sur les bactéries. On peut classer les phénomènes d'action en deux catégories : la bacteriostase et la bactericidie. On entend par "effet bacteriostatique", des altérations des phases de croissance entraînant "un ralentissement du taux de croissance", donc un nombre de bactéries inférieur à celui de la croissance totale sans agent antibactérien. Dans "l'effet bactéricide" on observe "une mort accélérée des bactéries" conduisant à un nombre très inférieur au nombre initial. Ces deux effets s'opposent dans la pratique expérimentale pour des raisons d'observation et de technique différentes, mais ne traduisent pas un mode d'action différente de l'antibiotique.

L'étude de la bacteriostase est basée dans la présente étude sur deux techniques. En premier lieu, il s'agit d'une mesure de la concentration minima inhibitrice (CMI) qui correspond à la plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle aucune pousse bactérienne n'est visible ; la lecture en est facile, mais il existe un certain nombre d'imprécisions, cette lecture étant visuelle du type "tout ou rien". La deuxième technique est largement utilisée dans l'antibiogramme. Elle consiste à estimer "les diamètres d'inhibition" autour de disques d'antibiotiques (à doses standardisées autour des CMI), mis en contact avec un milieu solide contenant un certain inoculum de bactéries. Dans ce cas, la taille de la zone d'inhibition est la résultante entre la vitesse de diffusion de l'antibiotique dans la gélose et l'aptitude du germe à subir l'action de l'antibiotique (en pleine phase exponentielle de croissance pour certains ou au contraire à l'état de repos).

L'étude de la bactéricidie consiste à compter les bactéries survivantes à partir d'une population donnée, mise en contact avec des antibiotiques à des doses supérieures ou égales à la CMI, la lecture étant faite à des temps variables. On parle de "Concentration Minima Bactéricide" (CMB) qui correspond à la plus faible concentration d'antibiotique laissant moins de 1.10^{-4} germes survivants. Les CMI et les CMB seront très proches pour des antibiotiques très bactéricides (Aminosides - Polymyxines).

Ces valeurs varient en fonction de plusieurs

facteurs qu'il est facile de déterminer in vitro : on peut définir la constitution physico-chimique du milieu idéal pour une activité optimum variable avec chaque classe d'antibiotique :

- les constituants du milieu : avec une proportion variable de protéines activant plus ou moins la croissance bactérienne, de lipides, de glucides avec leur rôle intriqué avec le pH, de sels pouvant empêcher la fixation de certains antibiotiques sur les bactéries ;
- le pH qui joue un rôle connu sur l'activité de presque tous les antibiotiques comme nous le verrons plus loin.
- un autre facteur important est l'inoculum en considérant :
 - . le nombre de bactéries ensemencées au temps zéro
 - . la phase de croissance au moment où se fait l'ensemencement selon que l'antibiotique agit sur la bactérie en pleine phase de multiplication ou à l'état de repos ; d'où la notion de temps de latence.

In vivo, ce schéma d'activité d'un antibiotique défini de façon précise selon divers paramètres, est moins net car il faut tenir compte d'autres conditions plus difficiles à contrôler. On peut calculer des concentrations sériques moyennes, mais l'intérêt est la concentration du produit dans le milieu désiré porteur de l'infection, en l'occurrence la sphère urinaire. Outre le choix d'un antibiotique à élimination urinaire sous forme active, il faut tenir compte de la concentration de ce produit et du temps de passage dans le tissu rénal et l'urine. L'élimination urinaire fait intervenir la filtration glomérulaire, l'excrétion tubulaire active des ions et la réabsorption passive des molécules non ionisées. Cette dernière dépend de la quantité de molécules neutres du médicament liposoluble, qui est fonction du pH de l'urine et de la valeur pKa du médicament (35). Les modifications de la clairance rénale d'un produit en fonction du pH urinaire ont été étudiées également par Milne en 1958 (28) et Asscher en 1970 (3) à propos de la Cephalexine. La constitution du milieu urinaire est très riche et variable. D'un moment à l'autre, d'un individu à l'autre, le pH,

l'osmolalité, la composition ionique peuvent changer. Si le pH des liquides de l'organisme ne varie pas, ou presque pas (autour de la neutralité), celui de l'urine peut aller de 4,8 à 8. L'agent bactérien lui-même peut modifier le pH urinaire (notamment le proteus rend le milieu alcalin autour de 9) et il est connu que l'acidification urinaire peut avoir une action propre antibactérienne sur le germe.

Ainsi le pH intervient fréquemment dans le schéma d'activité clinique des antibiotiques et peut avoir un intérêt thérapeutique dans les infections urinaires difficiles à traiter, en particulier les infections à Pseudomonas. Nous allons donc, pour situer le problème, présenter son influence sur chaque type d'antibiotique selon les recherches in vitro et in vivo effectuées par différents auteurs.

PREMIERE PARTIE

Variations d'efficacité selon le pH urinaire
des antibiotiques et antiseptiques
autres que les Quinolones

Données de la littérature

BETA-LACTAMINES

Le groupe des beta-lactamines a une bonne élimination par le rein sous forme active et constitue donc une classe d'antibiotiques intéressante dans les infections urinaires, d'autant plus que ceux-ci ont une activité bactéricide certaine. Nous allons essayer de regrouper les recherches faites sur chaque groupe en commençant par le plus ancien : les Penicillines G et semi-synthétiques.

PENICILLINES G

Dès 1946, Abraham et Duthie (1) étudient les variations du pH sur l'activité de la Penicilline G en constatant que cet agent thérapeutique est plus actif à pH 6,5 qu'à pH 7,5 sans que l'on sache si l'exagération de cette activité est due à un effet bacteriostatique ou à une bactericidie, la documentation originale n'ayant pas été retrouvée lors des recherches de bibliographie. Il existait donc déjà une notion d'activité à pH plutôt acide.

Eagle, Levy et Fleishmann en 1952 (13), par mesure des diamètres d'inhibition autour de disques d'antibiotiques sur milieu solide d'agar, montrent un accroissement d'activité de la Penicilline à pH élevé, très net sur le Staphylocoque doré, moins marqué sur le E. Coli, à la différence du Streptocoque.

Plus tard, Brumfitt et Percival (7) explorent les effets de la variation du pH sur l'activité de quelques antibiotiques contre plusieurs centaines de bactéries variées isolées d'urines d'infectés chroniques ensemencées sur milieux d'agar, (exprimée en diamètres d'inhibition), et en milieu liquide (par numération de germes survivants à partir d'une population initiale de 10^4 organismes) ; les résultats sont appréciés après 18 heures d'incubation à 37°.

Il semble que tous les organismes , dont le Streptocoque faecalis et l'Escherichia Coli, soient les plus sensibles à la Penicilline en milieu alcalin (donc aussi bien en bacteriostase qu'en bactericidie). L'étude est complétée in vivo avec les mêmes antibiotiques en répartissant les patients souffrant d'infection urinaire en deux groupes :

- A = sans ajustement du pH,
- B = avec ajustement du pH lors d'une prise orale d'alcalinisant ou d'acidifiant, les résultats étant appréciés par compte de germes et leucocyturie. Les auteurs concluent que l'activité bacteriostatique et bactericide est augmentée in vitro et in vivo, en milieu alcalin, contrairement aux travaux d'Abraham et Duthie en 1946 et d'autres travaux faits à la même époque et plus tard.

En effet, une potentialisation de l'activité de la Penicilline en milieu acide est reconnue par Thomas Mou (30). Celui-ci fait une étude de la bactéricidie de différents antibiotiques sur divers germes d'infectés urinaires, in vitro et in vivo. In vitro, il s'agit d'inoculats de quantité connue (à 4 concentrations différentes) dans des urines stériles, auparavant ajustées aux pH 5 et 7 et contenant des doses connues d'antibiotiques. Après une incubation à 37°, pendant 6 et 24 heures, une deuxième culture est faite sur milieu solide d'agar de nouveau à 37° pendant 24 heures à des dilutions connues afin de permettre une numération des colonies restantes. In vivo, deux lots de patients infectés urinaires chroniques sont choisis : l'un qui subit une alcalinisation par voie orale (avec du bicarbonate de sodium et du Diamox^r) et l'autre une acidification (avec du chlorure d'ammonium). Parvenus à un pH urinaire valable, les malades reçoivent une dose unique d'antibiotique. Un compte de germes est effectué 2 à 4 heures après (coincidant avec l'excrétion maximale de produit) ; trois jours après la même opération est faite sur les mêmes malades en inversant les lots. Il ressort de ces expériences que la Penicilline inhibe d'une façon marquée le Streptocoque faecalis, ceci à pH 5 ; les auteurs ne notent aucune inhibition à pH 7.

En fin en 1965, deux auteurs scandinaves, Tallgren et Bornsdorff (44) reprennent le même sujet en isolant 338 souches parmi 6 espèces microbiennes (*Coli*, *Proteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*, *Enterococcus*, *Staphylocoque aureus*) obtenues à partir d'urines d'infectés chroniques. L'effet antibactérien de divers antibiotiques est apprécié dans des conditions de bacteriostase par mesure des diamètres d'inhibition à l'aide de disques standards d'antibiotiques. L'étude est faite sur milieu solide d'agar ajusté au pH voulu (5,5 - 7,0 - 8,0) avant ensemencement, avec une prédifusion de trois heures en milieu ambiant et une incubation de 15 à 18 heures à 37°. Auparavant la sensibilité de chaque souche est testée vis-à-vis de chaque antibiotique à un pH autour de 7. Quatre degrés de sensibilité sont reconnus et groupés de I à IV, c'est-à-dire des plus sensibles aux plus résistants. Partout où un effet antibactérien significatif du pH est retenu à l'intérieur d'une espèce, on est gêné par un pourcentage de souches non influencées par le produit. Une deuxième étude est donc faite sur le comportement selon le pH de chaque groupe classé de I à IV. Ainsi on retient pour la Benzylpénicilline une action nette à pH bas sur l'*Enterocoque* seulement mais avec un pourcentage de 39 % de souches non influencées par le pH. Dans l'étude par groupes, on note peu de changement du groupe IV résistant quelque soit le pH, un accroissement net du groupe III moyennement résistant à pH 7 et 8, par contre une diminution nette du groupe II aux mêmes pH.

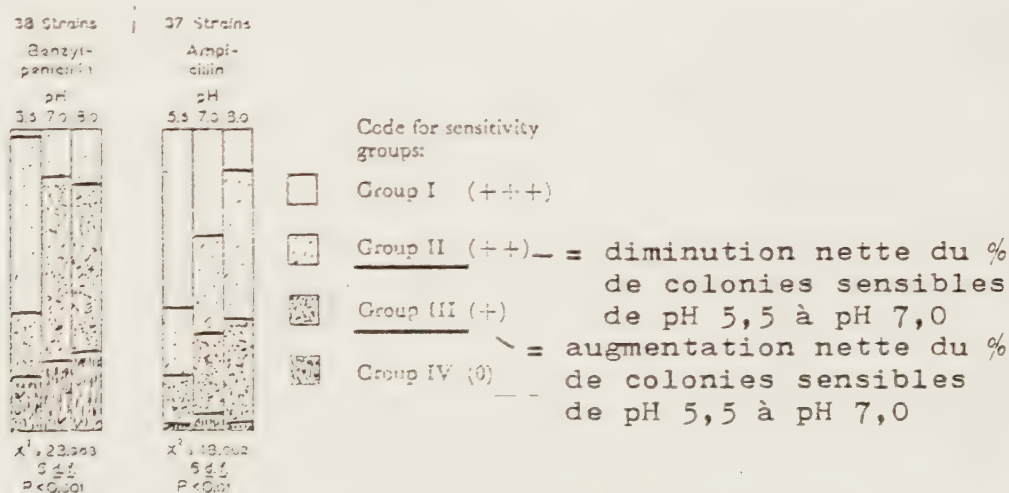


Fig.1: Activité bacteriostatique des Penicillines à 3 pH différents sur l'*Enterocoque* classé selon son degré de sensibilité au produit (diamètres d'inhibition) (44)

La même année, Georges Kalmanson (21) et ses collaborateurs étudient l'influence des variations de tous les facteurs physiques et chimiques pouvant intervenir dans le milieu urinaire, entre autres le chlorure de sodium, le chlorure de potassium, l'urée et le pH, sur l'activité de la Pénicilline. Les souches bactériennes testées sont le Streptocoque faecalis et l'E. Coli, à des concentrations de 10^3 organismes par ml. L'ajustement du pH du milieu de culture liquide est effectué avant la mise en incubation à 37° . Les mesures quantitatives par numérations de germes sont faites à 4 et 24 heures. La dose de Penicilline choisie est de 12,5 U/ml qui correspond à la C.M.I. Il ressort de cette étude de bactéricidie que l'activité de la Pénicilline est augmentée à pH acide sur l'Escherichia Coli et augmentée à pH alcalin sur le Streptocoque faecalis. (Cf. Tab. N° I)

Table 4. Effect of pH on activity of penicillin against *Escherichia coli* H and *Streptococcus faecalis*

Organism	Penicillin μg	Time of assay	pH			
			8.5	7.0	6.0	4.5
<i>E. coli</i> H	12.5	4	2.54*	4.63	5.58	1.39
		24	8.30	8.74	8.63	0.00
	0	4	6.79	6.91	6.91	5.00
		24	8.85	9.04	9.18	9.66
	12.5	4	2.32	3.18	3.41	3.34
		24	0.00	1.18	2.89	8.04
<i>S. faecalis</i>	0	4	6.08	6.65	6.28	3.65
		24	8.78	8.79	8.78	8.08

*Number of bacteria per milliliter ($\times 10^3$).

* Nbre de germes initiaux : 10^3

** Dose de Penicilline : 12,5 U/ml

*** Temps de contact germe-Pénicilline : 4 et 24 h.

= on note 0 germe survivant au bout de 24 h.

- au pH 4,5 pour l'E. Coli

- au pH 8,5 pour le Strepto. faec.

Tableau N° I : Activité Bactéricide de la PENICILLINE en fonction du pH, sur un E. Coli et un Strepto. faecalis (21)

C'est dans cette recherche sur les deux germes que les auteurs font le point sur plusieurs ouvrages précédemment cités, et souvent divergents. Il est surprenant de constater cette grande divergence de résultats : un nombre important de facteurs pouvant influencer le rôle du pH sur l'activité de la

pénicilline. Non seulement le germe testé intervient, mais pour le même germe il semble que la méthode de recherche peut jouer (quantité de germes, milieu solide ou liquide, sa composition, les techniques de prélèvements...).

Une dernière étude plus récente est faite par Michaël Simberloff (41) en 1970, sur l'inactivation des Pénicillines G et semi-synthétiques à pH alcalin, étude qui suivra deux idées maîtresses :

- une sensibilité plus grande des germes aux pénicillines en milieu acide, alors qu'à pH autour de 8, on obtient une inactivation totale de l'antibiotique en quelques heures.
- des variations possibles d'activité pour un même pH selon les autres composantes et conditions du milieu (sucre, température,...).

Les produits utilisés sont les Pénicillines G, M et A dissoutes dans l'eau stérile à la concentration de 1 mg/ml (soit 1 000 U/ml). Les sucs utilisés sont des solutions à 5 % de dextrose et 6 % de dextran. Le pH est ajusté avec du bicarbonate de sodium, de l'hydroxyde de sodium, du phosphate (0,2 M) ou du borate (0,1 M), avant l'addition des solutions de Pénicillines dans le milieu, et mesuré avec un pHmètre de Beckman. Les antibiotiques avant et après dilution sont titrés par la méthode de dilution (étude bactériostatique en fonction de l'inhibition de la turbidité du bouillon de culture). Les germes utilisés sont le Streptocoque A type I et le Staphylocoque 209 sensibles à des doses très inférieures à 0,05 U/ml de Pénicilline. Chaque tube est inoculé à environ 10^3 germes. L'incubation est à 37° durant 24 et 48 heures ... 4 jours. Il ressort de cette étude :

- 1) à 37° : au bout de 48 heures, l'activité est égale à 0 à pH 8,5 - 8,9, alors que les mêmes opérations ramenées au point de neutralité (7,2 - 7,4) sont presque stables.
- 2) de même, à pH alcalin stable (8,5 - 8,9), toujours à 37°, différentes concentrations de glucose et de dextrose jouent sur la stabilité des Pénicillines. Leur activité est nulle après 48 heures de contact avec 5 ou 10 % de glucose ou 6 % de dextran.

3) enfin à pH alcalin (8,5 - 8,9) (obtenu avec 0,075 % de bicarbonate de sodium), avec une solution de 5 % de glucose en faisant varier les températures (37° C - 20° C - 4° C), l'activité est à peu près nulle après 48 heures à 37° C alors qu'elle augmente en diminuant la température.

En conclusion, il semble bien que l'inactivation des Pénicillines est augmentée en milieu alcalin alors que le produit reste stable à pH neutre. Les variations de l'efficacité de ces produits selon le pH, le milieu, la température, semblent beaucoup plus importantes à retenir dans le domaine urinaire, plutôt qu'au niveau des milieux liquidiens de l'organisme plus stables (on peut noter que cette inactivation libère des esters et de l'acide pénicillinique et que c'est cet acide qui semblerait responsable de certaines réactions allergiques).

Pour terminer cette étude des Pénicillines, nous pouvons résumer les résultats des différents auteurs dans un même tableau : le Tableau n° II. (Cf. page suivante).

Nous ne pouvons pas tirer de conclusions précises permettant de définir une attitude pratique précise. En effet, pour un germe donné, pour une méthode expérimentale donnée, on arrive à des pH optimum d'action contraire.

TABLEAU N°II

Schema récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'Activité Bacteriostatique et Bactericide des PENICILLINES selon leur pH optimum d'action

GERMES	ACTIVITE			pH optimum d'action (*)	AUTEURS
	in vitro		in vivo		
	Stase	Cidie			
Staphylo.	.	.		basique ++ ^(**) acide +	Eagle (1952) Simberkoff(1970)
E. Coli	.	.	.	basique + basique + acide +	Eagle (1952) Brumfitt (1962) Kalmanson (1965)
Strept. Fae.	.	.	.	acide + basique + acide ++ basique + acide +	Eagle (1952) Brumfitt (1962) Mou (1962) Kalmanson (1965) Simberkoff(1970)
Enterocoque	.			acide +	Tallgren (1965)

(*) les valeurs de pH sont considérées comme :

- . acides pour des pH $\leq 6,5$
- . neutres pour des pH = 7
- . basiques pour des pH $\geq 7,5$

(**) le nombre de croix indique l'importance de l'activité de l'antibiotique au pH optimum par rapport à l'importance de l'activité de l'antibiotique aux autres pH étudiés :

- +++ = beaucoup plus actif
- ++ = nettement plus actif
- + = plus actif

AMPICILLINES

Nous retrouvons à peu près les mêmes résultats dans la littérature lors des expériences faites avec la Pénicilline G et souvent avec de plus grandes concordances.

Entre autres, Robinson et Stevens (35) montrent en 1961 une activité dix fois plus grande de l'Ampicilline à pH 5,5 qu'à pH 8,0 sur des souches d'E. Coli et d'Enterocoque (le document n'ayant pas été retrouvé, nous nous en tenons aux citations des auteurs, Thomas Mou en l'occurrence (31)). Avec le Staphylocoque et le Proteus, ils ne trouvent pas d'effet significatif.

On peut citer de nouveau l'étude de MicKaël Simberkoff (41) en 1970 sur l'inactivation des Pénicillines en général à pH alcalin, comme nous l'avons vu en détail un peu plus haut.

Tallgren (45) en 1965 trouve une activité bactériostatique (confère la méthode décrite plus haut lors de l'étude des Pénicillines) sur l'E. Coli et l'Enterocoque à pH bas avec cependant un pourcentage élevé de colonies non sensibles au produit (53 % pour l'E. Coli et 16 % pour l'Enterocoque) et assez peu influencées par les variations du pH. Nous trouvons ces résultats dans le tableau n° III concernant l'étude bactériostatique de divers antibiotiques (cf. page suivante)

Tableau n° III

Activité bacteriostatique, exprimée en diamètres d'inhibition en fonction du pH, de divers antibiotiques sur différents germes (45)

Antibacterial agent *							
Increased antibacterial effect at:	G-peni- cillin	Ampi- cillin	Oxytetra- cycline	Chlor- tetra- cycline	Strepto- mycin	Kana- mycin	Sulpha- thiazole
(a) falling pH	Enterococcus 1 (39%)	** E. coli (53%) Enterococcus (16%)	Enterococcus (41.3%)	Proteus (42%) Staph. aureus (27%) Enterococcus (13.4%)			E. coli (67%)
(b) rising pH					E. coli (26%) Proteus (33%)	E. coli (8%) Proteus (26%) Klebsiella (22%)	

* l'activité bactériostatique est étudiée par mesure des diamètres d'inhibition autour de disques standard d'antibiotiques tels que : Penicilline G, Ampicilline, Oxy- et Chlortetracycline, Streptomycine, Kanamycine, Sulfathiazole.

** l'étude est faite sur 338 souches groupant 6 espèces microbiennes : Enterocoque, E. Coli, Proteus, Staphylo. Aureus, Klebsiella, Pseudomonas aeruginosa.

(a) pH bas ou acide

(b) pH basique

(1) le pourcentage donné entre parenthèses au bas de chaque colonne, correspond au nombre de colonies non sensibles et non influencées par les variations du pH.

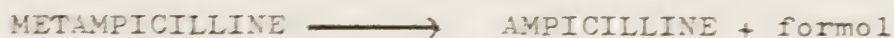
En 1970, Klasterky et Debusscher (22) font une étude sur l'activité bacteriostatique de 9 antibiotiques (dont l'ampicilline) sur les bacilles Gram (-) obtenus à partir de 126 malades cancéreux infectés urinaires, aux pH 5, 7, 8. Les différentes souches isolées sont ensemencées sur milieu solide d'agar ajusté aux trois pH. La méthode utilisée est celle de la mesure des diamètres d'inhibition autour de disques d'antibiotiques à dose standard (correspondant environ à la CMI), après une incubation à 37° pendant 18 heures. On note une zone d'inhibition plus grande autour des disques d'ampicilline à pH 5 qu'à pH 8 :

	<u>pH 5</u>	<u>pH 8</u>
diamètres d'inhibition :	23,9 ($\pm$ 6,0) mm	17,5 ($\pm$ 4,0) mm

Mais comme l'avait déjà rapporté Tallgren et Bornsdorff, l'intérêt clinique en est limité en raison du nombre de colonies non sensibles au produit (ce sont les groupes III et IV de Tallgren). Le nombre de colonies non sensibles est identique à pH 5 et 8.

	<u>pH 5</u>	<u>pH 7</u>	<u>pH 8</u>
% de colonies bacilles G (-) non sensibles :	40,6	39,8	41,4

Les autres ampicillines d'apparition plus récente sont des molécules presque identiques à l'ampicilline initiale et de stabilité faible. Ainsi Labia (24) étudie la stabilité de la Métampicilline (SUVIPEN^r) en fonction du pH du milieu. Ce produit est rapidement transformé en ampicilline à pH acide :



- à pH 7,5, l'hydrolyse enzymatique de la Métampicilline

- est très faible, tandis qu'à pH 6, la réaction est beaucoup plus rapide ;
- à pH stomacal (très acide), la demi-vie de la Métampicilline est de l'ordre de 0,5 seconde ; elle est donc totalement transformée en ampicilline à ce niveau ;
 - à pH sérique (7,4), sa demi-vie est de l'ordre de une heure, ce qui lui permet un effet propre, mais en tous cas difficile à distinguer de celui de l'ampicilline continuellement libérée.

Donc à pH acide, la Métampicilline est rapidement transformée en ampicilline. Au niveau urinaire, ce sera celle-ci qui agira essentiellement et nous revenons alors aux conclusions précédentes sur une plus grande activité des ampicillines à pH acide.

Enfin, l'Hétacilline (VERSAPEN[®]) serait éliminée dans les urines sous forme active et ses propriétés bactéricides urinaires seraient très augmentées en milieu acide. Nous n'avons pas retrouvé toutefois de documentation vérifiant cette affirmation. La formule chimique assez proche de la benzyl-pénicilline et des autres ampicillines laisse prévoir un comportement assez proche vis-à-vis du pH du milieu.

Si nous regroupons tous ces résultats dans le tableau récapitulatif n° IV, il en ressort que le pH optimum d'action bacteriostatique et bactericide, est nettement acide quelque soit la méthode expérimentale utilisée et quelque soit le germe.

TABLEAU N° IV

Schema récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'Activité Bacteriostatique et Bactericide des AMPICILLINES selon leur pH optimum d'action

GERMES	ACTIVITE			pH optimum d'action	AUTEURS
	in vitro		in vivo		
	Stase	Cidie			
E. Coli	?	?		acide ++ ^(**)	Robinson (1961)
	.			acide +	Tallgren (1965)
Staphylo.		.		acide +	Simberkoff(1970)
Streptoc.		.		acide +	simberkoff(1970)
Enterocoque	?	?		acide ++	Rolinson (1961)
	.			acide +	Tallgren (1965)
GRAM (-)	.			acide +	Klasterky (1971)

(*) les valeurs de pH sont considérées comme :

- . acides pour des pH $\leq 6,5$
- . neutres pour des pH = 7
- . basiques pour des pH $\geq 7,5$

(**) le nombre de croix indique l'importance de l'activité de l'antibiotique au pH optimum par rapport à l'importance de l'activité de l'antibiotique aux autres pH étudiés :

- +++ = beaucoup plus actif
- ++ = nettement plus actif
- + = plus actif

CARBENICILLINE (PYOPEN^r)

Nous terminerons la recherche de bibliographie des bétalactamines par l'étude de la Carbenicilline qui diffère des autres Pénicillines semi-synthétiques par son activité sur le *Pseudomonas Aeruginosa*, l'*E. Coli* et certains *Proteus* (Indol +). Le gros intérêt de ce produit est son activité à pH acide sur le *Pseudomonas*, germe fréquent en milieu hospitalier et difficile à traiter.

Dès 1968, Charles B. Smith (42) fait une étude approfondie de l'activité de la Carbenicilline sur ce germe selon le pH, la composition du milieu, l'importance de l'inoculat. La méthode consiste en la mesure des C.M.I. par micro-méthodes et repiquages en milieu liquide et solide à 37°, pendant 24 heures à plusieurs pH : 5,5 - 6,2 - 7,4 - 8,3. Les colonies de pyocyanique récemment isolées sont au préalable testées par la méthode des disques d'antibiotiques dosés à 100 mcg. L'activité de la Carbenicilline est retrouvée douze fois plus importante à pH 5,5 qu'à pH 8,3. En parallèle, la pousse de la bactérie a été calculée par numérations des colonies formées par millilitre, dans les mêmes conditions de milieu et de pH, et sans antibiotiques. On a constaté que cette pousse était diminuée de moitié à pH 5,5 par rapport au pH 7,4. Il ressort de cela que la plus grande activité du produit à pH acide n'est pas due seulement à l'inhibition de la croissance du micro-organisme par l'antibiotique, mais à une action du pH lui-même (le *Pseudomonas* étant un germe très sensible à l'acidité).

Tableau n° V

Variations d'activité bacteriostatique exprimée en C.M.I. de la CARBENICILLINE en fonction du pH sur un *Pseudomonas aeruginosa* (comparée à l'activité isolée du pH sur le même germe) (42)

pH	MIC*	Colony-forming units/ml after 24 hr at 37°C <i>dans antiseptique</i>
	$\mu\text{g/ml}$	
5.5	0.04	3.5×10^3
6.2	0.20	3.8×10^3
7.4	0.50	6.3×10^3
8.3	0.50	4.4×10^3

* Geometric mean of six separate tests with two-fold dilutions of antibiotic in brain-heart infusion broth.
 * *P. aeruginosa* 10490, growth at indicated pH without antibiotic.

Il est intéressant de noter dans cet article que les C.M.I. varient également en fonction de la concentration de l'inoculat ; elles sont d'autant plus basses que la dilution est plus grande. En outre, le *pseudomonas* exposé dans l'organisme à des concentrations sub-inhibitrices de Carbenicilline, développe des résistances ; et l'activité anti-*pseudomonas* atteint rapidement un degré élevé dans les urines par une injection intra-musculaire alors que dans le sérum, cela nécessite une administration intraveineuse continue à fortes doses. D'où l'intérêt malgré tout de ce produit dans les infections urinaires.

Un dernier travail non bactériologique peut être cité en faveur d'une activité favorisée en milieu acide. Il s'agit d'une étude cinétique à propos de l'influence du pH sur la vitesse de la dégradation de la Carbenicilline, faite par Zia (47) en 1974. La vitesse minimum se trouve à pH 6,5 en solution aqueuse à 35°). En milieu acide le carbenicillinate sodique se transforme en dioxyde de carbone et benzylpénicilline. On retrouve ainsi d'une part le schéma général de dégradation de toutes les pénicillines synthétiques et d'autre part l'intérêt d'une acidification des urines en pratique médicale.

En résumé, comme l'indique le tableau n° VI le pH optimum d'action bacteriostatique et bactericide de la Carbenicilline est acide.

TABLEAU N° VI

Schema récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'Activité Bacteriostatique et Bactericide de la CARBENICILLINE selon leur pH optimum d'action

GERMES	ACTIVITE			pH optimum d'action (*)	AUTEURS
	in vitro		in vivo		
	Stase	Cidie			
E. Coli	.			acide + (**)	Smith (1968)
Proteus Ind.	.			acide +	"
Pseud. Aer.	.			acide +++	"

(*) les valeurs de pH sont considérées comme :
 . acides pour des pH $\leq 6,5$
 . neutres pour des pH = 7
 . basiques pour des pH $\geq 7,5$

(**) le nombre de croix indique l'importance de l'activité de l'antibiotique au pH optimum par rapport à l'importance de l'activité de l'antibiotique aux autres pH étudiés :
 +++ = beaucoup plus actif
 ++ = nettement plus actif
 + = plus actif

CEPHALOSPORINES

Les travaux réunis concernent la cephalotine ou KEFLIN^r, la cephaloridine ou CEPORINE^r (laboratoires Glaxo) et KEFLODIN^r (laboratoires Lilly). Les renseignements de ces deux laboratoires consultés concordent : il n'y a pas de pH urinaire optimum d'action et ce dernier n'a pas d'influence sur la clairance rénale du produit.

Du fait que la Cephaloridine est une base faible et selon les travaux de Milne, Scribner, Crawford (28), on aurait pu penser que les variations de pH urinaire, modifiant l'équilibre forme non ionisée - forme ionisée, modifieraient la clairance de ce produit. A ce sujet, un travail a été publié en 1970, celui de A. W. Asscher et ses collaborateurs (3). L'étude in vivo est faite sur neuf sujets sains de 17 - 38 ans. L'acidification et l'alcalinisation des urines sont obtenues par la prise de chlorure d'ammonium (100mg/kg) ou du bicarbonate de sodium (100mg/kg) une heure avant la prise de 1 gr. de Cephaloridine. Les mesures de clairance de ce produit augmentent après acidification chez 7 sujets ; chez un sujet, elle reste identique ; chez le neuvième, elle diminue légèrement. L'étude statistique appliquée à ce résultat ne montre pas de corrélation significative entre la clairance de la cephaloridine et le pH. "L'élévation de la clairance de la cephaloridine produite par l'acidification est néanmoins de signification douteuse et est considérée comme sans conséquence thérapeutique". Mais il s'agit ici d'une étude physiologique et non bactériologique.

La même année, Klasterky (22) pense également qu'il n'y a pas d'effet apparent du pH sur les variations de la taille des zones d'inhibition autour de disques dosés à 30 mcg. de Cephalotine. Cette étude vue plus en détail à propos de l'ampicilline est faite sur les bacilles Gram (-) en milieu solide après 18 heures d'incubation à 37° ; les résultats sont :

	<u>pH 5</u>	
diamètres d'inhibition :	20 mm (⁺ 6,1)	18 mm (⁺ 3,6)

avec un pourcentage de colonies résistantes à peu près identiques, ne variant pas avec le pH.

Un travail japonais in vitro a été fait la même année par Jun Igari (19) sur l'E. Coli. Celui-ci étudie l'action bactéricide de multiples antibiotiques sur ce germe selon le pH. Les solutions sont préparées avec un nombre précis de germes (10^6 /ml) isolés d'urines infectées et ajustées au pH voulu, la sensibilité de ces germes étant préalablement testée par la méthode des disques. Après mise en incubation à 37°, des prélèvements sont faits toutes les quatre heures et remis en cultures pour une détermination quantitative des colonies restantes. A une dose faible de 2 mcg/ml on note une inhibition faible de la croissance du E. Coli au pH 6, plus nette aux pH 7 et 8. A concentrations plus élevées (5 et 20 mcg/ml) il y a une chute importante de la quantité de colonies mais indépendante des variations du pH.

Figure n° 2

Activité bactericide de la CEPHALORIDINE
selon le pH sur un E. Coli (19)

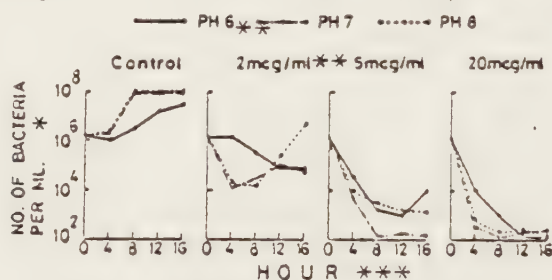


Fig. 7. Growth inhibition of E. coli by cephaloridine in urine (Strain: E. coli (Takayanagi)).

* nombre de germes initiaux : 10^6 /ml mis en contact avec

** 3 doses de produits à 3 pH différents (6 - 7 - 8)

*** la mesure des survivants est faite 4h. -8h. -12 h. -16 h. après la mise en contact

= chute nette à pH 7 et 8 à la dose minimale de produit (2 mcg)

Ces derniers résultats rejoignent dans le fond les résultats précédents : l'activité des céphalosporines est peu influencée par les variations du pH, comme nous pouvons le constater dans le tableau n° VII

TABLEAU N° VII

Schema récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'Activité Bacteriostatique et Bactericide des CEPHALOSPORINES selon leur pH optimum d'action

GERMES	ACTIVITE			pH optimum d'action (*)	AUTEURS
	IN VITRO		IN VIVO		
	Stase	Cidie			
GRAM (-)	.			indifférent	Klasterky(1970)
E. Coli		.		neutre (+) (**)	IGARI (1970)

(*) les valeurs de pH sont considérées comme :

- . acides pour des pH $\leq 6,5$
- . neutres pour des pH = 7
- . basiques pour des pH $\geq 7,5$

(**) le nombre de croix indique l'importance de l'activité de l'antibiotique au pH optimum par rapport à l'importance de l'activité de l'antibiotique aux autres pH étudiés :

- +++ = beaucoup plus actif
- ++ = nettement plus actif
- + = plus actif

AMINOSIDESSTREPTOMYCINE

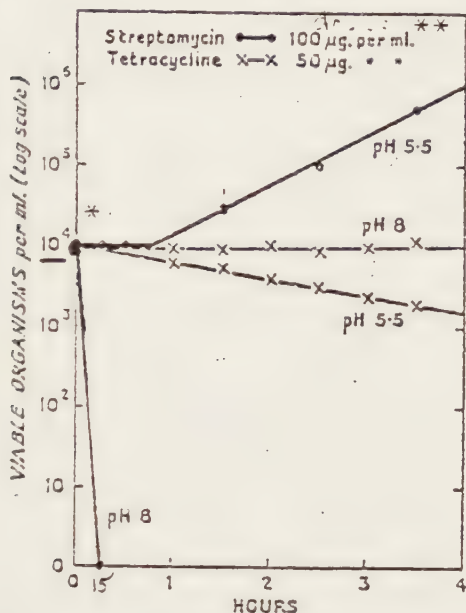
De même que la Pénicilline G a fait l'objet, dès l'après-guerre, d'une étude des variations du pH sur son activité, la première molécule oligosaccharidique a été explorée dans le même sens à la même époque. Finland et ses collaborateurs (14) en 1946, Harris (18) en 1947, Murray (31) en 1948 montrent un accroissement d'activité de la Streptomycine à pH alcalin (les documents n'ont pu être réunis au cours des recherches de bibliographie). Plus tard, d'autres explorations ont été entreprises (souvent d'ailleurs décrites déjà avec celles de la Pénicilline) et qui allaient en général dans le même sens que celles des précédents auteurs.

Eagle (13) en 1952 constatait une inhibition plus nette à pH alcalin sur le E. Coli, le Streptocoque faecalis et le Staphylocoque doré (au cours d'une étude bactériostatique par mesure des diamètres d'inhibition autour de disques d'antibiotiques en milieu solide).

Brumfiitt et Percival (7) en 1962 retrouvent la même notion au cours d'une recherche plus approfondie de l'activité bactériostatique (disques d'antibiotiques standards sur milieu solide d'agar à 37° pendant 18 heures) ; et bactéricide (par numération de germes survivants), et ceci de façon très importante. Ainsi la Streptomycine peut stériliser totalement ($N=0$) une culture de 10^4 germes E. Coli en 15 minutes à pH 8 alors qu'à pH 5,5 on note une multiplication des germes. (cf. fig 3) Ces données étaient confirmées par l'étude in vivo effectuée sur deux groupes de patients avec et sans ajustement du pH, les résultats étant appréciés par numérations de germes dans les urines et leucocyturies.

Figure n° 3

Activité bactéricide de la STREPTOMYCINE et de la TETRACYCLINE en fonction du pH sur un E. Coli. (7)



* nombre decolonies d'E. Coli avant la mise en contact avec la Streptomycine = 10^4 / ml

** dose de Streptomycine : 100mcg/ml

= à pH 5,5 : multiplication des germes

à pH 8 : N = 0 à 15 mn.

Par contre, Thomas Mou (30) la même année montre un manque de concordance entre l'étude précédente et les résultats de ses recherches in vitro et non in vivo.

In vitro, il s'agit d'une appréciation de la bactéricidie de différentes souches inoculées à différentes concentrations (10^2 - 10^4 - 10^6 - 10^8 /ml) dans une urine stérile ajustée aux pH 5 et 7 et contenant des doses connues d'antibiotiques. Après une incubation à 37° de 6 heures et 24 heures, une deuxième culture est faite sur milieu solide d'agar à 37° pendant 24 heures, après quoi une numération de colonies restantes est effectuée. Les résultats globaux de cette expérience se trouvent résumés dans le tableau n° VIII page suivante.

In vivo, les patients sont répartis en deux lots : l'un qui subit une alcalinisation (bicarbonate de sodium et diamox), et l'autre une acidification (chlorure d'ammonium) avant la prise d'une dose unique d'antibiotique. Des mesures de pH et numérations de germes urinaires sont effectuées régulièrement avant et surtout 2, 3, 4 heures après (correspondant à une excrétion maximale du produit).

Tableau n° VIII

Variations de l'activité Bactéricide de divers antibiotiques selon le pH et selon le germe (30)

ORGANISM	ANTIBIOTIC		pH 5		pH 7	
	NAME	σ /ml	6 HOURS	24 HOURS	6 HOURS	24 HOURS
S. aureus	Chloramphenicol	3.0-12.0			NO INHIBITION	
	Oxytetracycline	6.0-25.0				
	Streptomycin	12.0				
S. fecalis	Chloramphenicol	1.5			NO INHIBITION	NO INHIBITION
	Oxytetracycline	1.5-6				
	Penicillin	2.0				
	Streptomycin	6.0				
	Tetracycline	.078-10.0				
P. aeruginosa	Oxytetracycline	6.0			NO INHIBITION	
	Polymyxin B	0.25				
	Streptomycin	6.0				
	Tetracycline	13.3-53.3				
DIFFERENCE IN INHIBITORY EFFECTS AT pH 5 AND pH 7 BY LOGS			LOGS	LOGS	LOGS	LOGS

FIG. 2. Effect of urine pH on bacterial growth inhibition by various antibiotics

ORGANISM	ANTIBIOTIC		pH 5		pH 7	
	NAME	σ /ml	6 HOURS	24 HOURS	6 HOURS	24 HOURS
A. aerogenes	Chloramphenicol	15-75				
	Oxytetracycline	3-12				
	Polymyxin B	1.5-6.0				
	Streptomycin	3.0				
	Tetracycline	0.2-12.0				
E. coli	Chloramphenicol	3.0				
	Oxytetracycline	1.5				
	Polymyxin B	1.5	NO INHIBITION			
	Streptomycin	6.0				
	Tetracycline	0.0005-0.01				
P. vulgaris	Chloramphenicol	41				
DIFFERENCE IN INHIBITORY EFFECTS AT pH 5 AND pH 7 BY LOGS			LOGS	LOGS	LOGS	LOGS

De ces explorations, l'importance de la nature du germe ressort une fois encore : le germe semble réagir différemment selon le pH. Le Streptocoque faecalis et Pseudomonas Aeruginosa sont les plus inhibés en milieu acide quelque soit l'antibiotique utilisé (même la Streptomycine réputée avoir une action supérieure en milieu alcalin, est plus efficace in vitro à pH 5 qu'à pH 7). Le Staphylocoque doré obéit aux mêmes lois (activité moyenne à pH acide). Par contre,

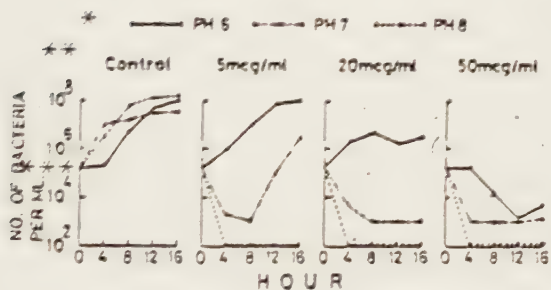
avec l'E. Coli et l'A. Aerogenes, on note nettement une efficacité plus grande en milieu plus alcalin. In vivo, à l'aide de numérations de germes dans les urines et de leucocyturies, la Streptomycine s'est révélée être plus active en milieu alcalin sur le Pseudomonas, contrairement aux résultats in vitro cités plus hauts.

Tallgren (44) en 1965 confirme l'efficacité accrue à pH élevé mais note également des variations en fonction de la souche étudiée. Ainsi il existe un effet bactériostatique notable sur l'E. Coli et le Proteus à pH élevé ; le Klebsiella qui présente souvent une haute résistance à la Streptomycine (50 %) est peu influencé par les variations du pH du milieu vis-à-vis de cet antibiotique.

Jun Igari (19) en 1970 montre également un accroissement très important de l'activité bactéricide à pH 7 et surtout à pH 8 sur un Coli sensible à la Streptomycine :

Figure n° 4

Activité bactéricide de la STREPTOMYCINE selon le pH sur un E. Coli (19)



* 3 pH : 6 - 7 - 8

** 3 doses : 5 - 20 - 50mcg/ml

*** $N = 10^5$ germes/ml.
avant la mise en contact
avec la Streptomycine

= $N = 0$ à la 4^e heure
aux 3 doses à pH 8

En conclusion, nous pouvons réunir les résultats réunis dans un même tableau récapitulatif : le tableau n° IX (cf. page suivante). Nous ne pouvons retenir un pH optimum d'action bactériostatique et bactéricide que pour l'E. Coli. Mais pour les autres germes, les résultats sont plus incertains.

TABLEAU N° IX

Schema récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'Activité Bacteriostatique et Bactericide de la STREPTOMYCINE selon son pH optimum d'action

GERMES	ACTIVITE			pH optimum d'action (*)	AUTEURS
	in vitro		in vivo		
	Stase	Cidie			
E. Coli	.	.	.	basique ++ (**)	Eagle (1952)
		.	.	neutre +++	Mou (1962)
		.	.	basique +++	Brumfitt (1962)
	.			basique ++	Tallgren (1965)
		.		basique +++	Igari (1970)
Pseud. Aer.		.	.	acide +++	Mou (1962)
			.	neutre ++	Mou (1962)
Aerob. Aero.		.		neutre +++	Mou (1962)
Proteus	.			basique ++	Tallgren (1965)
Klebsiella	.			indifférent	Tallgren (1965)
Strept. Fae.	.	.		basique +	Eagle (1952)
		.		acide ++	Mou (1962)
Staphylo.	.	.		basique +	Eagle (1952)
		.		neutre +	Mou (1962)

(*) les valeurs de pH sont considérées comme :

- . acides pour des pH $\leq 6,5$
- . neutres pour des pH = 7
- . basiques pour des pH $\geq 7,5$

(**) le nombre de croix indique l'importance de l'activité de l'antibiotique au pH optimum par rapport à l'importance de l'activité de l'antibiotique aux autres pH étudiés :

- +++ = beaucoup plus actif
- ++ = nettement plus actif
- + = plus actif

KANAMYCINE

Les résultats regroupés au sujet de la Kanamycine sont proches de la Streptomycine, bien que plus fidèles. Il s'agit en effet d'un oligosaccharide déjà ancien, de pharmacologie comparable à ceci près qu'il présente une plus grande toxicité audiorénale.

Le premier document retrouvé est de Morikubo (29) en 1958. Il utilise la méthode des stries sur gélose, l'antibiotique étant dilué dans le milieu à deux pH différents 7,6 - 7,2. Les C.M.I. mesurées à ces deux pH pour différents germes (microcoques, diplocoques, streptocoques, bacillus, corynebactérium, salmonella) font entrevoir la meilleure activité du produit en milieu plus basique.

Brumfitt et Percival (7) en 1962, utilisent plusieurs souches bactériennes dont le Streptocoque et le E. Coli, ensemencés sur milieu liquide et solide à pH 5,5 - 7 - 8, et étudient l'activité bactériostatique in vitro (cf. le détail de la méthode lors de l'étude de la Pénicilline). Ils constatent une augmentation de l'activité de la Kanamycine à pH alcalin envers tous les organismes testés.

De même, Tallgren (44) conclut en 1965 à des résultats identiques sur l'E. Coli, le Proteus, le Klebsiella : l'activité bacteriostatique est plus nette à pH alcalin, avec toujours un certain pourcentage de colonies résistantes. Ce pourcentage devient maximum à pH acide pour l'E. Coli et le Proteus. A noter un pourcentage faible de Klebsiella résistantes à la Kanamycine à pH élevé (7 %), ce qui peut présenter un certain intérêt de ce produit malgré sa toxicité. (cf. tab. n° VIII page 43).

Cette notion de résistance de bacilles Gram (-) est reprise par Klasterky (22) en 1970 lors de son étude bactériostatique sur 126 souches isolées d'urines infectées. Pour une dose standard de 30 mcg. par disque de Kanamycine,

il note une zone d'inhibition légèrement plus étendue à pH 8 :

	<u>pH 5</u>	<u>pH 8</u>
diamètres d'inhibition autour de disques		
Kanamycine (30 mcg)	13,3 mm	20,3 mm

avec 15 % de souches résistantes à pH 5 qui deviennent sensibles à pH 8.

Jun Igari (19) en 1970 fait la preuve d'un effet bactéricide en vitro important sur un E. Coli à pH 8 en partant d'une culture de 10^5 germes.

En résumé, le pH optimum d'action bacteriostatique et bactericide de la Kanamycine, est un pH alcalin, comme nous le montre le tableau récapitulatif n° X de la page 30.

GENTAMICINE (Gentalline^r)

En même temps que la Kanamycine, Klasterky et Debusscher (22) ont étudié en 1970 la Gentamicine, actuellement la tête de file des aminosides, de par sa très grande activité sur les bacilles Gram (-) et le Staphylocoque, et son apparente non toxicité sur le rein sain. Ces deux auteurs trouvent une activité bactériostatique légèrement supérieure à pH alcalin, à faible dose (disques dosés à 10 mcg).

	<u>pH 5</u>	<u>pH 8</u>
diamètres d'inhibition autour de disques de		
GENTAMICINE (10 mcg)	10 mm	15,2 mm

Ils trouvent une très forte quantité de germes sensibles à pH élevé :

	<u>pH 5</u>	<u>pH 7</u>	<u>pH 8</u>
Pourcentage de germes sensibles à des disques de:			
GENTAMICINE (10 mcg)	64,2 %	96,7 %	99,2 %

TABEAU N°X

Schema récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'Activité Bacteriostatique et Bactericide de la KANAMYCINE selon son pH optimum d'action

GERMES	ACTIVITE			pH optimum d'action (*)	AUTEURS
	in vitro		in vivo		
	Stase	Cidie			
Tous germes	.	.		basique + (**)	Morikubo (1958)
				basique ++	Brumfitt (1962)
E. Coli	.	.		basique +++	Tallgren (1965)
				basique +++	Igari (1970)
Proteus	.			basique ++	Tallgren (1965)
Klebsiella	.			basique +++	Tallgren (1965)
GRAM (-)	.			basique +	Klasterky(1970)

(*) les valeurs de pH sont considérées comme :

- . acides pour des pH $\leq 6,5$
- . neutres pour des pH = 7
- . basiques pour des pH $\geq 7,5$

(**) le nombre de croix indique l'importance de l'activité de l'antibiotique au pH optimum par rapport à l'importance de l'activité de l'antibiotique aux autres pH étudiés :

- +++ = beaucoup plus actif
- ++ = nettement plus actif
- + = plus actif

Il est intéressant cliniquement de noter un bon pourcentage de colonies résistantes pouvant devenir sensibles en augmentant le pH. Ainsi 34 % de bacilles Gram(-) résistants à pH 5 deviennent sensibles à pH 8.

Bakker et Michel (4) en 1970 étudient la sensibilité in vitro, bactériostatique (C.M.I.) et bactéricide (C.M.B.) de la Gentamicine, selon le pH du milieu (8,2 - 7,2 - 6,0) et la taille de l'inoculat ($7,6 \times 10^6$ - 10^4) sur deux souches de E. Coli. Ils constatent que la C.M.I., par la méthode des dilutions après une incubation de 20 heures à 37°, est multipliée par deux quand le pH passe de 8,2 à 7,2, et multipliée par quatre quand le pH passe de 7,2 à 6. Les résultats sont comparables pour les C.M.B. (mesurées par spectrophotométrie avec une sensibilité moindre à quantité de germes élevée, pour un même pH):

Tableau n° XI

Influence des variations du pH du milieu et de l'importance de l'inoculat sur l'activité bactériostatique (C.M.I.) et bactéricide (C.M.B.) de la GENTAMICINE sur 2 E. Coli (C₁ et C₂) - (4)

GENTAMICINE		C.M.I.* (mcg/ml)		C.M.B.* (mcg/ml)	
germes : 7,6		$\times 10^6$	$\times 10^4$	$\times 10^6$	$\times 10^4$
pH 6	C ₁	12,5*	6,250	12,500	6,250
	C ₂	12,5	6,250	12,500	6,250
pH 7,2	C ₁	3,125	0,780	6,250	1,560
	C ₂	3,125	0,780	12,500	0,780
pH 8,2	C ₁	1,560	0,390	12,500	0,390
	C ₂	1,560	0,390	6,250	0,390

Ces variations en fonction de la quantité de germes et du pH expliquent en partie les différences de valeurs in vitro (exprimées en C.M.I. et C.M.B.) trouvées par les auteurs,

de même que les variances in vivo de la bactériurie et du pH très variables dans le milieu urinaire.

Ce fut l'objet d'une publication de J. F. Acar (2) et F. Goldstein en 1969 (Hôpital Saint-Joseph à Paris). Ces deux auteurs français ont tenté de confronter les données établies in vitro et l'effet in vivo du traitement des infections urinaires par la Gentamicine sur les bacilles Gram (-). Les bactéries urinaires ont été identifiées à partir de 43 malades adultes traités par 52 cures de Gentamicine. L'étude in vitro de la sensibilité des germes a été faite par la méthode des disques lus quantitativement à l'aide de courbes de concordance. La détermination de la C.M.I. a été faite par la méthode de dilutions en gélose avec des concentrations finales de Gentamicine échelonnées de 0,5 à 128 mcg/ml. In vivo, la bactériurie a été étudiée par numérations de germes survivants à l'anse calibrée. Les bactéries sont dénombrées au cours des 12 premières heures de traitement, à la 24^e heure 48^e heure, puis de 2 jours en 2 jours. Après l'arrêt du traitement, une surveillance hebdomadaire est maintenue.

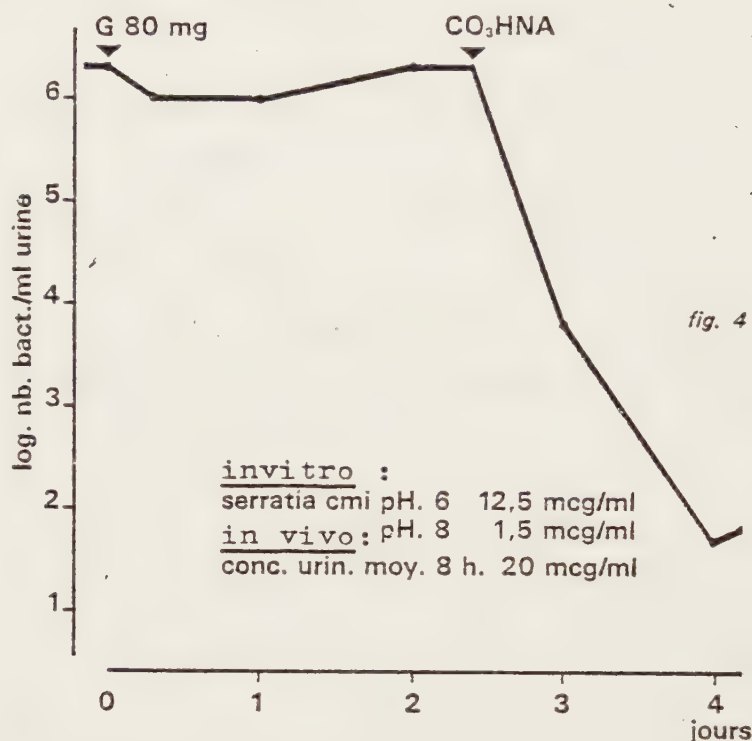
Les résultats sont :

- une C.M.I. globale inférieure à 4 mcg/ml ;
- 41 cas montrent une réduction du nombre de bactéries par ml. inférieure à 100 à la 24^e heure ;
- 25 guérisons complètes à 3 mois et 18 mois (ce qui correspond à 60 % des malades ;
- 14 échecs.

Parmi les échecs au traitement, un cas est intéressant à noter : chez un sujet sans insuffisance rénale notable, un *Serratia* sensible in vitro, n'a pu être éliminé des urines pendant les trois premiers jours du traitement ; ce fait paradoxal fut expliqué par un pH à 5,5 des urines. La seule alcalinisation a permis d'obtenir un effet très net mais resté incomplet. En effet, in vitro, à pH 6 la C.M.I. était de 12 mcg/ml, alors qu'à pH 8, celle-ci diminue : 1,5 mcg/ml. Ces données sont rapportées dans la figure n° 5, page suivante.

Figure n° 5

Influence du pH urinaire vis-à-vis de l'activité in vivo de la GENTAMICINE sur un *Serratia* (2)



- In vitro, l'activité bacteriostatique exprimée en C.M.I. est environ x 8,5 de pH 6 à pH 8
- In vivo, pour une dose de Gentamicine de 80 mg/ml, chez un malade ayant un pH urinaire à 5,5, seule l'alcalinisation fait diminuer le nombre de *Serratia* dans les urines.

L. D. Sabath (36) dans une publication faite en 1969 sur le problème des infections urinaires mentionne le cas d'un malade chronique porteur d'un *Klebsiella*. Ce germe montrait un gradient de sensibilité à la Gentamicine de 1 000 entre le pH 5 et le pH 8, en faveur de ce dernier. La dose du produit ingérée par le malade était de 1/6e de la dose habituelle. L'action du produit fut mesurée par titrage (correspond à l'inverse des dilutions inhibitrices maximales de l'urine). Les deux premiers jours sans prise d'alcalin, le pH était de 5,6 et le titre ne dépassait pas 1 à 4.

En ajoutant au traitement du Diamox ou du bicarbonate de sodium, le pH s'éleva à 8,1 - 8,9 et l'urine put être diluée 32 à 128 fois et resta toujours inhibitrice envers cet organisme même avec 1/6e de la dose administrée initialement.

GENTAMICINE	2e jour	4e jour
45 mg/j	pH 5,6 - 6,6	pH 8,1 - 8,9
titre ($\frac{1}{\text{DMI}}$)	1 - 4	32 - 128

L'intérêt de l'alcalinisation serait donc de permettre l'emploi de micro-doses d'antibiotiques mais il ne s'agit là que d'une approche expérimentale.

Enfin pour essayer d'étayer l'étude in vivo de la Gentamicine, on peut citer les recherches faites par C. Mariel (27) et ses collaborateurs (hôpital Claude Bernard) en 1972, bien qu'il ne s'agisse pas ici de bactériologie, mais de l'étude dynamique de la clairance rénale de la Gentamicine en fonction du pH (avec pour référence la clairance de l'Inuline). Les dosages sont effectués chez trois sujets sains après charge acide et alcaline ; la clairance moyenne de la Gentamicine est de 92 ml/mn après charge acide, de 98 ml/mn après charge alcaline. La différence est considérée comme non significative et n'explique pas toutes les variations que l'on peut constater in vivo.

En résumé, nous constatons dans le tableau récapitulatif n° XII (page 35), que le pH optimum d'action de la Gentamicine est nettement basique.

TABLEAU N° XII

Schema récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'Activite Bacteriostatique et Bactericide de la GENTAMYCINE selon son pH optimum d'action

GERMES	ACTIVITE			pH optimum d'action (*)	AUTEURS
	in vitro		in vivo		
	Stase	Cidie			
GRAM (-)	.			basique ++ ^(**)	Klasterky (1970)
E. Coli	.	.		basique +++	Bakker (1970)
Serratia	.		.	basique +	Acar (1969)
Klebsiella			.	basique +++	sabath (1969)

(*) les valeurs de pH sont considérées comme :

- . acides pour des pH $\leq 6,5$
- . neutres pour des pH = 7
- . basiques pour des pH $\geq 7,5$

(**) le nombre de croix indique l'importance de l'activité de l'antibiotique au pH optimum par rapport à l'importance de l'activité de l'antibiotique aux autres pH étudiés :

- +++ = beaucoup plus actif
- ++ = nettement plus actif
- + = plus actif

TOBRAMYCINE (Nebcine^r)

Un oligosaccharide plus récent, la Tobramycine a été étudiée en 1972 par Mickaël Britt (6) et ses collaborateurs, en le comparant à la Gentamicine. Il est intéressant de noter que la C.M.I. de la Tobramycine dans les conditions standards de laboratoire, est 4 fois inférieure à celle de la Gentamicine contre le Pseudomonas ; le Staphylocoque doré est très inhibé. Une partie de cette étude est consacrée à l'activité bactériostatique exprimée en C.M.I. de la Tobramycine en fonction du pH. A partir de 15 souches isolées d'urines de patients infectés (4 Coli, 5 Pseudomonas, 3 Proteus, 3 Klebsiella-Enterobacter), ensemencés à 10^4 germes/ml; la mesure de la C.M.I. fut appréciée à pH 5,5 - 7 - 8,3. A pH acide, celle-ci est 2 fois plus importante pour toutes les souches testées qu'à pH neutre. A pH alcalin, elle est 2 fois plus élevée pour les 5 souches de Pseudomonas, 2 des trois souches de Proteus et 2 des quatre souches de Coli. Pour les 3 souches restantes, il n'y a pas de différence:

Tableau n° XIII

Accroissement de l'activité bacteriostatique de la TOBRAMYCINE à pH neutre sur 15 germes Gram (-), exprimée en C.M.I. (6)

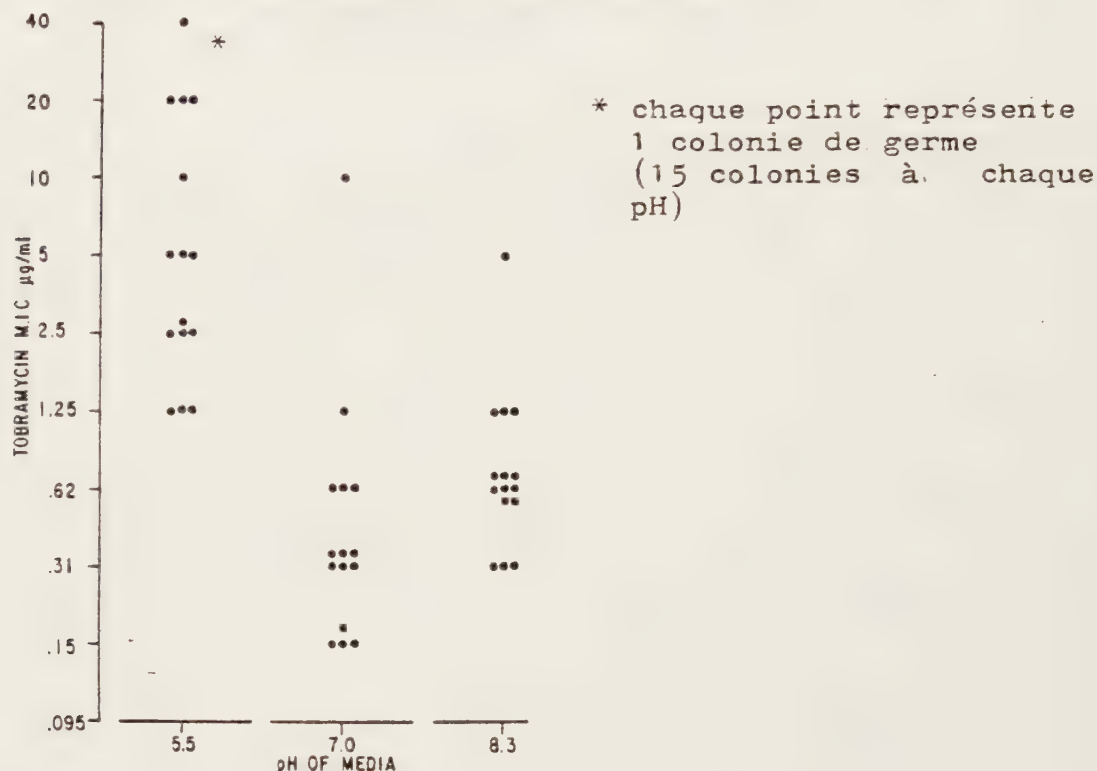
Germes étudiés	Nombre de colonies dont la CMI x 2		
	pH 5,5	pH 7	pH 8,5
5 Pseudomonas	5	0	5
4 Coli	4	0	2
3 Proteus	3	0	2
3 Klebsiella	2	0	0

Ceci suggère que la Tobramycine est nettement plus active in vitro à pH neutre et plus légèrement à pH alcalin (selon la bacteriostase). Le tableau détaillé des valeurs des C.M.I.

en fonction du pH, retrouve bien les valeurs les plus basses à pH neutre quelque soit le germe :

Tableau n° XIV

Répartition de 15 cultures microbiennes Gram (-) d'après leur sensibilité à la TOBRAMYCINE variant avec le pH du milieu (étude bacteriostatique exprimée en C.M.I.) (6)



Une autre étude similaire a été faite sur les 2 aminosides par Pamela Waterworth (45) la même année. Elle aussi reconnaît que la Tobramycine est plus active sur le Staphylocoque et le Pseudomonas que la Gentamicine (par une mesure des C.M.I. sur 472 souches). Entre autres, l'effet du pH a été exploré sur 23 germes Gram (-) par détermination des CMI sur milieu d'agar à pH 6 - 6,5 - 7 - 7,5 - 8 - 8,5. Il n'y a pas de différence significative entre les résultats des 2 antibiotiques ; les deux sont plus actifs en milieu alcalin, mais les différences sont moins nettes qu'avec les autres aminosides et l'auteur s'attarde peu sur le phénomène.

En conclusion, il faut retenir que l'activité bacteriostatique de la Tobramycine est très nette à pH plutôt neutre que franchement alcalin, comme le montre le tableau récapitulatif n° XV (page 38).

TABLEAU N° XV

Schema récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'Activité Bacteriostatique et Bactericide de la TOBRAMYCINE selon son pH optimum d'action

GERMES	ACTIVITE			pH optimum d'action (*)	AUTEURS
	in vitro		in vivo		
	Stase	Cidie			
GRAM (-)	.			(**) neutre +++ basique ++	Britt (1972) Waterworth(1972)

(*) les valeurs de pH sont considérées comme :

- . acides pour des pH $\leq 6,5$
- . neutres pour des pH = 7
- . basiques pour des pH $\geq 7,5$

(**) le nombre de croix indique l'importance de l'activité de l'antibiotique au pH optimum, par rapport à l'importance de l'activité de l'antibiotique aux autres pH étudiés :

- +++ = beaucoup plus actif
- ++ = nettement plus actif
- + = plus actif

POLYMYXINES

POLYMYXINE B et COLISTINE (Colimycine^r)

Il s'agit d'une famille de polypeptides cycliques très intéressante par son action bactericide essentiellement sur les bacilles Gram (-).

Yves Chabbert (9) au cours d'une publication sur l'activité de la Colistine in vitro dans Minerva Medica en 1958, mentionne une activité plus nette à pH acide qu'à pH alcalin. Il s'agit d'une mesure de zones d'inhibition autour de disques d'antibiotiques à concentrations croissantes sur milieu solide d'agar à pH 6 - 7 - 8, ensemencé avec une souche de Shigella Sonnei. Il ressortait de ceci une activité bacteriostatique dix fois plus importante à pH 6 qu'à pH 8.

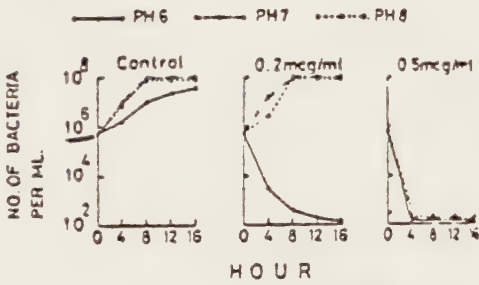
Pour Thomas Mou (30) en 1962, lors d'une étude de bactericidie in vitro et in vivo développée au cours de l'étude des pénicillines, la Polymyxine B apparait comme étant plus efficace à pH alcalin quand elle est testée sur l'E. Coli et le A. Aerogenes. Contre le Pseudomonas au contraire, cet antibiotique semble plus actif en milieu acide ; mais il faut tenir compte de la grande sensibilité de ce germe à l'acidité du milieu. Les mêmes résultats ont été retrouvés in vivo sur ce dernier germe. Nous retrouverons ces données dans le tableau n° VIII page 25 .

Au cours d'un compte-rendu publié en 1969 sur le problème des infections urinaires à Gram (-), Sabath (36) mentionne l'effet du pH sur l'activité de cinq antibiotiques les plus importants, actifs sur le Pseudomonas. Les C.M.I. des Polymyxines (B et E qui n'est autre que la Colistine) sont 30 à 100 fois plus faibles à pH alcalin (8 - 8,5) qu'à pH acide (5,0 - 6,0).

Jun Igari (19) en 1970 montre l'effet bactericide à pH 6 - 7 - 8 (par numération de germes survivants après 24 heures d'étuve à 37°) de la Polymyxine B sur un E. Coli urinaire dont la sensibilité a été testée auparavant. A 0,2 mcg/ml, il note une inhibition marquée à pH 6 mais une activité nulle à un pH plus alcalin ; alors qu'à une dose supérieure (0,5 mcg/ml), il constate une disparition totale des germes aux trois pH.

Figure n° 6

Activité bactéricide de la POLYMYXINE B en fonction du pH du milieu sur un E. Coli (19)



- nombre de colonies testées : 10^6
- mises en contact 24 h. avec 0,2 et 0,5 mcg/ml aux pH 6, 7, 8
- numération des germes survivants toutes les 4 h.
- = à 0,2 mcg/ml : N = 0 à 16h. à pH 6 - chute très nette

Par contre Klasterky (22) en 1970, ne trouvait aucun effet net du pH sur l'activité bacteriostatique de ce produit. La méthode consistait à mesurer les zones d'inhibition autour de disques de Polymyxine B dosés à 300 U, en milieu solide ensemencé à partir de 126 germes Gram (-) d'infectés urinaires chroniques et mis en culture 18 heures à 37° aux pH 5, 7, 8. De même, le pourcentage de colonies sensibles ne variait pas avec le pH :

	<u>pH 5</u>		<u>pH 8</u>
zones d'inhibition (mm) :	10,4		9,7
	<u>pH 5</u>	<u>pH 7</u>	<u>pH 8</u>
% de colonies sensibles :	89,7	87,3	86,5

Là encore, la réponse de la Polymyxine B et de la Colistine vis-à-vis du pH, varie selon les auteurs et les germes comme l'indique le tableau n° XVI.

TABLEAU N° XVI

Schema récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'Activité Bacteriostatique et Bactericide des POLYMYXINES selon leur pH optimum d'action

GERMES	ACTIVITE			pH optimum d'action (*)	AUTEURS
	in vitro		in vivo		
	Stase	Cidie			
Shigella	.			(**) acide +++	Chabbert (1958)
E. Coli		.	.	basique +	Mou (1962)
		.		acide ++	Igari (1970)
A. Aerog.	.	.		basique ++	Mou (1962)
Pseudomonas		.	.	acide +	Mou (1962)
GRAM (-)	.			basique +++	Sabath (1969)
	.			indifférent	Klasterky(1970)

(*) les valeurs de pH sont considérées comme :
 . acides pour des pH $\leq 6,5$
 . neutres pour des pH = 7
 . basiques pour des pH $\geq 7,5$

(**) le nombre de croix indique l'importance de l'activité de l'antibiotique au pH optimum par rapport à l'importance de l'activité de l'antibiotique aux autres pH étudiés :
 +++ = beaucoup plus actif
 ++ = nettement plus actif
 + = plus actif

MACROLIDES

ERYTHROMYCINE

Nous allons aborder une autre classe d'antibiotiques largement utilisée en pratique courante et beaucoup étudiée dans la littérature. Le principal tête de file est : L'Erythromycine (Abboticine^r - Propiocrine^r). Bien que les Macrolides soient peu utilisées en pathologie urinaire, nous citerons les résultats bactériologiques en fonction du pH urinaire pour garder l'intérêt de l'étude comparative des différentes classes d'antibiotiques. La plupart des auteurs sont d'accord pour trouver une activité antibactérienne en général plus sensible à pH alcalin.

Brumfitt (7) en 1962 étudie l'activité de l'Erythromycine, bactériostatique in vitro (mesure des diamètres d'inhibition), et bactericide (numération de germes survivants) selon le protocole précédemment décrit lors de l'étude des Pénicillines (cf. page 5). Il conclut à une augmentation in vivo et in vitro de l'activité de l'antibiotique en milieu alcalin sur tous les organismes traités.

En 1969, Stephen Zinner, Sabath et collaborateurs (48) notaient une extension du spectre d'action de l'Erythromycine sur les bacilles Gram (-) à pH alcalin, ce qui est inhabituel dans les conditions normales.

In vitro, il s'agit d'une mesure des C.M.I. selon la méthode des dilutions à pH 7,4 et pH 8,5 sur 24 E. Coli et 15 Klebsiella. Les C.M.I. sont 8 à 9 fois plus basses à pH 8,5.

L'étude in vivo fait l'objet d'une autre publication par les mêmes auteurs (49) en 1971, à propos de 37 malades porteurs d'infection urinaire chronique (retenus à partir d'une numération de germes d'au moins 10^5 germes/ml, de 23 E. Coli, 9 Klebsiella, 1 Pseudomonas. Les urines sont maintenues à un pH entre 7,4 et 8 par prise de bicarbonate

de sodium. L'antibiotique est pris pendant 14 jours à raison de 500 à 1 000 mg/jour. Dans 73 % des cas, les cultures reviennent totalement négatives pendant le traitement ; 46 % (c'est-à-dire 17 patients sur 37 au départ en tenant compte des rechutes) le deviennent 3 semaines après ; 14 patients sur ces 17 restent négatifs 2 et 6 mois après.

Klasterky (22) en 1970 trouve une zone d'inhibition légèrement plus importante à pH 8 qu'à pH 5 autour de disques standard d'Erythromycine :

	<u>pH 5</u>	<u>pH 8</u>
diamètres d'inhibition (mm)	14,3	14,3

Il s'agit d'une étude faite sur 126 germes Gram (-) in vitro à pH 5, 7 et 8. Le pourcentage de souches sensibles variant avec le pH s'établit comme suit :

	<u>pH 5</u>	<u>pH 7</u>	<u>pH 8</u>
% de colonies sensibles :	3,3	45,6	84,6

Il note ainsi que cet antibiotique habituellement peu actif sur les germes Gram (-) peut se transformer en agent actif par ajustement du pH. A pH 8, l'Erythromycine est active contre 92,2 % des E. Coli, 94,6 % des Klebsiella-Enterobacter et même 3 des neuf souches de Pseudomonas, et 8 des 14 souches de Proteus sont sensibles à un tel pH. Les résultats obtenus à ce pH sont assez proches de ceux obtenus avec les antibiotiques les plus puissants comme la Gentamicine, les Polymyxines et les Cephalosporines.

Dans un second travail en 1971 (23), Klasterky compare l'efficacité de l'association Erythromycine + bicarbonate et de la Nitrofurantoïne. Il démontre que l'association est aussi efficace que cet antiseptique urinaire classique. In vivo, deux lots de 25 patients pour l'Erythromycine et 21 patients pour la Nitrofurantoïne, sont retenus à partir d'une bactériurie s'élevant à 10^5 germes par ml. au moins, tous des Gram (-) dont 12 E. Coli, 6 Klebsiella, 5 Proteus Mirabilis, 1 Pseudomonas. La durée du traitement est de 10 jours à raison de 500 mg 3 fois par jour et 4 g

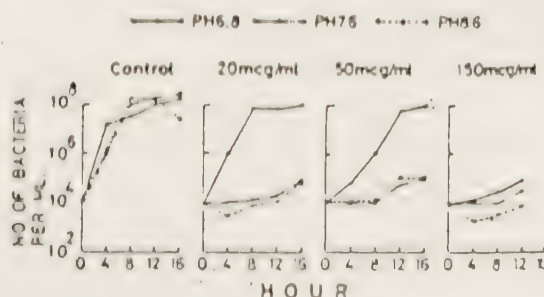
de bicarbonate de sodium. Les résultats cliniques montrent 76 % de cure totale par l'association Erythromycine + bicarbonate contre 62 % par la Nitrofurantoinne. Il est intéressant de noter que la clairance rénale de l'Erythromycine n'est pas altérée de façon significative par l'alcalinisation. In vitro, deux mesures ont été faites :

- une mesure des concentrations minima inhibitrices (CMI) à pH 7,2 pour la Nitrofurantoinne et l'Erythromycine, puis à pH 8,5 pour ce dernier produit. On note un pourcentage 4 fois plus important environ de colonies inhibées au pH alcalin.
- une mesure des dilutions maximales inhibitrices montrant une relation entre le pH et le pouvoir bactéricide de 68 prélèvements d'urines de malades traités à l'Erythromycine. Les prélèvements étant dilués en milieu nutritif liquide (Difco) et conservés pendant 24 heures à 37°, nous pouvons constater qu'à grande dilution (supérieure à 1/16e) il existe encore une inhibition à pH alcalin.

Enfin un dernier travail doit être cité, fait par J. Igari (19) en 1970 à propos de l'action bactéricide in vitro de divers antibiotiques selon le pH sur un E. Coli. Ce Coli choisi ici de type Takayanagi n'était pas sensible à l'Erythromycine par la méthode standard des disques. Les mesures sont faites à partir de 10^4 germes/ml mis en cultures à 37°. A des doses de 20 et 50 mcg/ml d'antibiotiques, il n'y a pas de changement à pH 7,6 et pH 8,6, alors qu'à pH 6,8, on constate une multiplication importante à 10^8 germes à 8 et 12 heures.

Figure n° 7

Activité bactéricide de l'ERYTHROMYCINE en fonction du pH du milieu sur un E. Coli (19)



Ainsi, l'Erythromycine a une activité bacteriostatique et bactericide plus nette à pH basique sur les bacilles Gram (-) :

TABLEAU N° XVII

Schema récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'Activité Bacteriostatique et Bactericide de l'ERYTHROMYCINE selon son pH optimum d'action

GERMES	ACTIVITE			pH optimum d'action (*)	AUTEURS
	in vitro		in vivo		
	Stase	Cidie			
Germes divers	.	.	.	basique + (**)	Brumfitt (1962)
GRAM (-)	.	.	.	basique +	Zinner (69-71)
	.	.	.	basique +	Klasterky (1970)
	.	.	.	basique +	" (197I)
E.Coli	.	.	.	basique +	Igari (1970)

(*) les valeurs de pH sont considérées comme :

- . acides pour des pH $\leq 6,5$
- . neutres pour des pH = 7
- . basiques pour des pH $\geq 7,5$

(**) Le nombre de croix indique l'importance de l'activité de l'antibiotique au pH optimum par rapport à l'importance de l'activité de l'antibiotique aux autres pH étudiés :

- +++ = beaucoup plus actif
- ++ = nettement plus actif
- + = plus actif

NOVOBIOCINE

Il s'agit d'un antibiotique habituellement connu comme étant actif sur les Germes Gram (+). Mais on retrouve dans la littérature, chez plusieurs auteurs, la notion d'une certaine activité sur les Gram (-) en milieu acide.

A ce sujet, Casey (8) en 1969 fait une étude détaillée in vivo et in vitro. In vivo, il choisit 14 patients infectés urinaires chroniques retenus à partir d'une numération de 10^5 germes/ml ou plus, de bacilles Gram (-) (6 Coli 5 Klebsiella, 1 Proteus, 1 Enterobacter, 1 Serratia). La durée du traitement est de 6 jours à raison de 2 à 4 gr. le premier jour puis de 1 à 2 gr. les 5 jours suivants selon l'état rénal des malades. En même temps, ceux-ci reçoivent 1 gr. de chlorure d'ammonium toutes les 4 heures pendant la journée. Les numérations de germes sont faites le 6e jour (à la fin du traitement), le 9e jour, 3 semaines et 3 mois plus tard. Le pH est mesuré au pHmètre aux mêmes dates et surveillé régulièrement dans la journée au papier à pH.

Les résultats ont montré :

- au 6e jour : 8 patients sur 14 avaient des urines stériles (entre autres sur les Coli, Proteus, Klebsiella) et non sur l'Enterobacter et le Serratia.
- le 9e jour : 5 des 8 numérations de germes négatives au 6e jour restent négatives.
- 3 semaines et 3 mois après, 2 seulement restent négatives.
- du point de vue du pH : sur 12 patients qui ont maintenu leur pH entre 4,5 et 5,5, on retrouve les 8 patients avec des cultures négatives en fin de traitement.

In vitro, la sensibilité de 7 germes Gram (-) est testée selon le pH par la mesure des C.M.I. :

- à pH 5,5, la C.M.I. de 6 germes se situe entre 1,6 et 6,2 ^{mcg/ml}
- à pH 7,2 - 7,4, pour les 7 germes elle se situe de 100 à 800 mcg/ml.

On retrouve in vitro une sensibilité nulle de l'Enterobacter et du Serratia à cet antibiotique quelque soit le pH.

Il est difficile de déduire de ces données une application

pratique. Les résultats in vivo ne sont pas démonstratifs, quant à l'activité du produit sur les Gram (-). La courte durée du traitement (6 jours) peut être responsable des résultats moyens. De plus, les auteurs notent des concentrations de Novobiocine dans les échantillons d'urine acidifiée, plus basses que celles attendues (telles qu'elles étaient rapportées ~~chez~~ des sujets non acidifiés). Une telle diminution de l'excrétion rénale des molécules de cet antibiotique faiblement acide avait déjà été mentionné par Milne (28) en 1958.

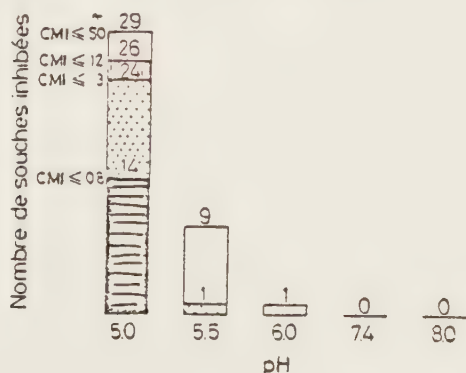
La même année au cours d'une information sur les infections urinaires à *Pseudomonas*, Sabath et ses collaborateurs (36) se sont intéressés au problème d'antibiotiques ordinairement considérés comme non actifs in vitro sur ce germe ; entre autre la Novobiocine. L'étude est faite in vitro par mesure des C.M.I. sur 30 souches de *Pseudomonas Aeruginosa* à différents pH avec des concentrations de Novobiocine de 150 mcg/ml au maximum :

- à pH 5, 29 des 30 souches sont inhibées par 50 mcg/ml ;
26 le sont encore par 12 mcg/ml ou moins ;
- à pH 5,5, 9 seulement sont sensibles ;
- à pH 6, une seule le reste ;
- au-dessus, il n'y a aucune inhibition.

Il est donc ici intéressant d'avoir un pH très acide pour trouver une activité bacteriostatique nette.

Figure n° 8

Activité bacteriostatique de la NOVOBIOCINE en fonction du pH sur 30 *Pseudomonas Aeruginosa* (mesure des C.M.I.) (36)



* nombre de souches inhibées pour des

CMI ≤ 50 mcg/ml	
CMI ≤ 12 mcg/ml	
CMI ≤ 3 "	
CMI ≤ 0,8 "	

Des résultats semblables ont été publiés par Klasterky en 1970 (22) à propos d'une étude bacteriostatique sur 126 germes Gram (-). Les diverses techniques ont été décrites au cours de l'étude sur l'Ampicilline (p.14). Les diamètres d'inhibition autour de disques d'antibiotiques dosés à 30 mcg, sont nettement augmentés à pH 5 :

	<u>pH 5</u>	<u>pH 8</u>
diamètres d'inhibition (mm) :	17,9	9,9

Le pourcentage de souches sensibles aux différents pH, s'établit comme suit avec la Novobiocine :

	<u>pH 5</u>	<u>pH 7</u>	<u>pH 8</u>
% de germes sensibles :	65,3	35,6	35,3

Ainsi, comme le montre le tableau récapitulatif n° XVIII, la Novobiocine a une activité bacteriostatique plus nette à pH basique même sur les germes Gram (-), et surtout le Pseudomonas, non sensible habituellement à ce produit.

TABLEAU N° XVIII

Schema récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro, sur l'Activité Bacteriostatique et Bactericide de la NOVOBIOCINE selon son pH optimum d'action

GERMES	ACTIVITE			pH optimum d'action (*)	AUTEURS
	in vitro		in vivo		
	Stase	Cidie			
GRAM(-)	.		.	acide + (**)	Casey (1969)
	.			acide ++	Klasterky(1970)
Pseudomonas	.			acide +	Sabath (1969)

(*) les valeurs de pH sont considérées comme :

- . acides pour des pH $\leq 6,5$
- . neutres pour des pH = 7
- . basiques pour des pH $\geq 7,5$

(**) le nombre de croix indique l'importance de l'activité de l'antibiotique au pH optimum par rapport à l'importance de l'activité de l'antibiotique aux autres pH étudiés :

- +++ = beaucoup plus actif
- ++ = nettement plus actif
- + = plus actif

CHLORAMPHENICOL

Ce produit, le Chloramphenicol et ses dérivés, sont métabolisés dans le foie en un complexe glycuronique inactif, et sont éliminés au niveau rénal à près de 90 % sous cette forme et seulement 5 à 6 % sous forme active. Pour cette raison, nous ne l'utilisons pas dans le traitement des infections urinaires. Il a été démontré toutefois que ce produit voit son activité antibactérienne varier avec le pH.

Thomas Mou (30) trouve une petite activité du Chloramphenicol en milieu acide (pH 5) et une activité nulle à pH 7, particulièrement sur le *St. Aureus*, le *Streptoc. faecalis*, *A. Aerogenes*, le *E. Coli*, le *Proteus Vulgaris* ; tous étant des germes de quantité connue provenant d'infections urinaires chroniques. Leur sensibilité au Chloramphenicol est illustrée par la mesure des germes survivants après un contact de 6 heures et 24 heures, avec le produit à pH 5 et 7.

Jun Igari (19) en 1970 étudie l'activité bactericide in vitro du Chloramphenicol sur une souche de *E. Coli* comptant 10^4 colonies. Il ne trouve pas de diminution nette du nombre de bactéries survivantes quelque soit le pH du milieu. Le ralentissement de croissance est seulement dû à l'élévation des doses de produit.

Figure n° 9

Activité bactericide du CHLORAMPHENICOL en fonction du pH du milieu sur un *E. Coli* (19)

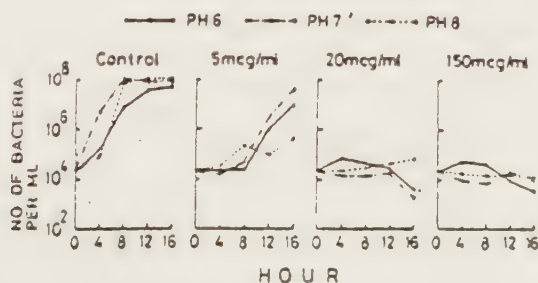


TABLEAU N° XIX

Schema récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'Activité Bacteriostatique et Bactericide du CHLORAMPHENICOL selon son pH optimum d'action

GERMES	ACTIVITE			pH optimum d'action (*)	AUTEURS
	in vitro		in vivo		
	Stase	Cidie			
Germes divers		.		acide + (**)	Mou (1962)
		.		indifférent	Igari (1970)

(*) les valeurs de pH sont considérées comme :

- . acides pour des pH $\leq 6,5$
- . neutres pour des pH = 7
- . basiques pour des pH $\geq 7,5$

(**) le nombre de croix indique l'importance de l'activité de l'antibiotique au pH optimum par rapport à l'importance de l'activité de l'antibiotique aux autres pH étudiés :

- +++ = beaucoup plus actif
- ++ = nettement plus actif
- + = plus actif

TETRACYCLINES

Il s'agit d'une vaste famille d'antibiotiques à large spectre aux activités généralement identiques, qui diffèrent sensiblement par leur pharmacologie. Largement utilisés en pratique courante, ils sont cependant peu intéressants dans le cadre du traitement des infections urinaires en raison de leur activité plus bacteriostatique que bactericide, de leur élimination moyenne au niveau du rein (60 % pour la Tetracycline, 18 % pour la Chlortetracycline) et enfin une concentration très variable dans l'appareil urinaire. Nous donnerons les résultats bactériologiques tout de même pour l'intérêt de l'étude comparative de l'activité de toutes les classes d'antibiotiques en fonction du pH.

En 1962, Brumfitt et Percival (7) notent un accroissement d'activité bacteriostatique et bactericide à pH acide sur une centaine d'organismes, notamment sur le E. Coli. Les expériences faites ont compris :

- une mesure des diamètres d'inhibition autour des disques d'antibiotiques standards, en milieu solide d'agar,
- une numération de germes survivants à partir d'une culture de 10^4 Coli/ml.

Cependant l'effet est nettement moins impressionnant que celui de l'alcalinisation sur l'activité de la Streptomycine sur le même germe (cf. figure n° 3 page 8)

A pH 8, nous avons une courbe plate, maintenant une quantité de germes à 10^4 /ml, donc ayant un effet bacteriostatique simple ; alors qu'à pH 5,5 on note un effet bactericide partiel : 10^3 germes/ml au bout de 4 heures).

Thomas Mou (30), la même année, trouve des résultats discordants selon les germes, comme nous l'avons déjà vu au sujet d'autres antibiotiques. D'ailleurs, nous ne

détaillerons pas ici les méthodes déjà vues plus haut (il s'agit d'une étude bactericide par numérations de germes survivants). Il étudie l'Oxytetracycline et la Tetracycline. Là encore, il semble qu'il n'y ait qu'un effet bactericide partiel par rapport aux autres grandes classes d'antibiotiques.

- In vitro, le Streptocoque faecalis, le Pseudomonas aeruginosa, le Staphylocoque doré, sont plus sensibles en milieu acide (pH 5). Pour le E. Coli, la Tetracycline a une très faible activité à pH acide et l'Oxytetracycline a une activité notable à pH basique.
- In vivo, les résultats sont également variables :
 - . efficacité à pH acide pour le Proteus et le B. Alkaligenes
 - . efficacité à pH alcalin sur le E. Coli
 - . pas de modification nette pour le Pseudomonas.

Au cours d'une étude d'activité bactériostatique de plusieurs antibiotiques selon le pH sur 338 souches choisies parmi 6 espèces microbiennes (Coli, Proteus, Pseudomonas, Klebsiella, Enterobacter, Staphylocoque doré), Tallgren et Bornsdorff (44) retrouvent une notion d'activité de la Chlortetracycline et de l'Oxytetracycline à pH acide, variable selon le germe. La méthode utilisée est la mesure des diamètres d'inhibition autour de disques d'antibiotiques standards, en milieu solide d'agar aux pH 5,5 - 7,0 - 8,0. Chaque souche est classée dans les groupes I à IV selon son degré de sensibilité à l'antibiotique. Les mesures de bacteriostase sont complétées par l'étude des variations du pourcentage de chacun de ces groupes en fonction du pH. Ainsi :

- les deux tétracyclines ont une action sur l'Enterocoque à pH 5,5. La Chlortetracycline, plus active que la Tetracycline sur ce germe a en plus un effet significatif sur le Proteus et le Staphylocoque doré.
- le Groupe IV (le plus résistant aux Tétracyclines) est sensiblement augmenté à pH basique et inversement pour les groupes plus sensibles :

<u>% de colonies sensibles :</u>	<u>pH 5</u>	<u>pH 8</u>
OXYTETRACYCLINE :		
Enterocoque gr IV	10 %	30 %
gr I	40 %	20 %
CHLORTETRACYCLINE :		
Enterocoque gr IV	2 à 5 %	15 à 18 %
gr I	80 %	20 %
Proteus gr IV	40 %	95 %
gr I	3 %	2 %
Staphylo. gr IV	0 %	70 %

Klasterky (22) en 1970 fait également une mesure des diamètres d'inhibition autour de disques standard de 9 antibiotiques dont la Tétracycline sur 126 bacilles Gram (-) à pH 5 - 7 et 8. Il retrouve également une augmentation de la bacteriostase à pH acide :

	<u>pH 5</u>	<u>pH 8</u>
•diamètres d'inhibition (mm) :	22,2 ($\pm$ 2,0)	15,3 ($\pm$ 4,5)

Là encore, comme Tallgren, l'auteur note un nombre de souches sensibles à la Tétracycline variable selon le pH :

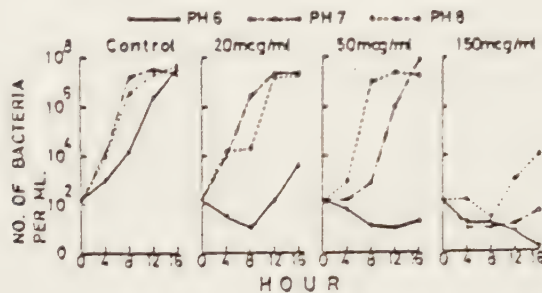
	<u>pH 5</u>	<u>pH 7</u>	<u>pH 8</u>
• % de souches sensibles :	69,3	62,9	50 %
et 21 % de souches résistantes à pH 8 deviennent sensibles à pH 5.			

Une autre étude bactericide in vitro, faite par Jun Igari (19), est intéressante à signaler. Il s'agit d'une numération de germes survivants à partir d'une quantité connue de 10^2 E. Coli/ml. La souche choisie ici était résistante à la Tétracycline, testée par la méthode des disques standards. A des doses moyennes de 20 et 50 mcg/ml, on note un effet inhibiteur seulement à pH 6,

et au contraire un accroissement à pH 7 et 8. A une dose élevée de 150 mcg/ml, l'effet existe aux trois pH, mais semble plus prolongé à pH 6 (numération à peu près nulle à 16 H.)

Figure n° 10

Activité bactericide de la TETRACYCLINE en fonction du pH du milieu sur un E. Coli (19)



En fin un dernier article de James Jaffe (20) et ses collaborateurs publié en 1974, est intéressant à signaler sur les effets de la Doxycycline (VIBRAMYCINE^r) selon le pH. Il s'agit d'une étude dynamique in vivo et non bactériologique sur l'effet des modifications du pH urinaire sur l'excrétion rénale avec une dose unique ou multiple. L'alcalinisation entraîne une augmentation de la clairance rénale du produit et une diminution de la demi-vie dans les deux conditions de prise du produit. Il est en effet connu que la demi-vie de l'antibiotique est modifiée, selon qu'il y ait prise unique : soit 8,3 heures, ou multiple : soit de 14,5 heures.

En résumé, les Tetracyclines étudiées en bactériostase et bactericidie, montrent un léger accroissement de leur activité à pH acide, ainsi que nous le prouvent le tableau récapitulatif n° XX.

TABLEAU N° XX

Schema récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'Activité Bacteriostatique et Bactericide des TETRACYCLINES selon leur pH optimum d'action

GERMES	ACTIVITE			pH optimum d'action (*)	AUTEURS
	in vitro		in vivo		
	Stase	Cidie			
Tous germes	.			acide + (**)	Tallgren (1965)
GRAM (-)	.			acide +	Klasterky(1970)
E. Coli		.		acide +	Brumfitt (1962)
			.	basique +	Mou (1962)
		.		acide +	MOU (1962)
		.		acide +	Igari (1970)
Strept. Fae.		.		acide +	Mou (1962)
Pseud. Aeru.		.		acide +	Mou (1962)
			.	indifférent	Mou (1962)
Staphy. Aur.		.		acide +	Mou (1962)
Proteus			.	acide +	Mou (1962)

(*) les valeurs de pH sont considérées comme :
 . acides pour des pH $\leq 6,5$
 . neutres pour des pH = 7
 . basiques pour des pH $\geq 7,5$

(**) le nombre de croix indique l'importance de l'activité de l'antibiotique au pH optimum par rapport à l'importance de l'activité de l'antibiotique aux autres pH étudiés :
 +++ = beaucoup plus actif
 ++ = nettement plus actif
 + = plus actif

AUTRES ANTIBACTERIENS DE L'UTERUS

Parmi les nombreux antibactériens, nous retiendrons deux produits intéressants :

- parmi les sulfamides : l'association Sulfaméthoxazole-Triméthoprime (BACTRIM^r - EUSAPPRIM^r)
- parmi les antiseptiques urinaux : les Nitrofuranes avec la Furalantoïne (FURADOINE^r - FURADANTINE^r).

LA NITRO-FURALANTOÏNE

À propos de la Nitrofuradantoïne, Brumfitt et Percival (7) concluent en 1962 que celle-ci n'est pas affectée de façon significative par les modifications du pH ; ceci au cours d'une étude sur divers germes (Coli surtout, Proteus, Klebsiella, Streptococcus faecalis...), isolés d'urines d'infectées chroniques ensemencées aux pH 5,5 - 7,0 - 8,0 sur milieu solide (permettant une mesure des diamètres d'inhibition autour de disques standard de produit), et en milieu liquide (permettant une numération de germes survivants) ; les lectures étant faites après 18 heures d'incubation. Des résultats comparables se retrouvent in vivo dans les deux groupes de patients traités avec ou non une modification du pH :

- groupe A : sans modification du pH
 - groupe B : avec modification du pH
- avec 70 % environ de cure totale après un premier traitement dans les deux catégories.

Par contre, la même année, Thomas Mou (30) montrait uniformément une activité bactéricide in vitro plus nette quand le pH du milieu est acide ; ceci contre le E. Coli, le Proteus, le Streptococcus faecalis. La méthode expérimentale utilisée a été décrite lors de l'étude d'autres antibiotiques (Pénicillines en particulier, p. 6). Les résultats de cette activité sont rapportés dans le tableau n° XXI de la page suivante.

Tableau n° XXI

Activité bactericide de la NITROFURADANTOINE à pH acide et basique sur 4 germes (30)

A. aerogenes			E. coli			S. faecalis			P. vulgaris		
Conc. *	pH		Conc. *	pH		Conc. *	pH		Conc. *	pH	
	5	7		5	7		5	7		5	7
mg. %			mg. %			mg. %			mg. %		
0	8*	10	0	5	8	0	4	7	0	6	5
1.0	8	10	0.05	5	8	0.2	4	7	1.6	2	5
2.0	0	10	0.2	5	8	1.0	4	6	8.0	0	6
4.0	0	10	1.0	0	7	4.0	0	3	40.0	0	2
8.0	0	6	2.0	0	0	8.0	0	0	80.0	0	0

* concentration de Nitrofuradantoine exprimée en mg %

** nombre de survivants (ramenés en log.)

Dans leur conclusion, les auteurs pensent qu'il existe une relation entre le degré d'ionisation (en rapport avec le pKa) des agents antibactériens et leur activité bactérienne. Dans le cas de la Nitrofuradantoine, acide faible de pKa 7,2 (donc peu ionisée à pH acide), l'activité bactericide est inversement proportionnelle au degré d'ionisation.

Cette notion d'ionisation avait été évoquée en 1961 par M. Woodruff (46), au cours d'une étude dynamique de la Nitrofuradantoine au niveau rénal. Etant un acide faible, ce produit est plus dissocié en milieu alcalin qu'en milieu acide. La forme non dissociée est capable de pénétrer passivement la membrane cellulaire, alors que les ions dissociés sont incapables de traverser la membrane lipidique. Les expériences furent faites chez le chien en utilisant la méthode des stop-flow, les clairances du produit mesurées à différent pH par administration d'acide chlorhydrique ou de bicarbonate de sodium. Ces résultats montrent que la Nitrofuradantoine est plus réabsorbée par le tubule quand l'urine est acide. L'alcalinisation entraîne une plus grande concentration urinaire du patient. Le problème se pose ici de l'intérêt clinique d'acidifier ou d'alcaliniser les urines in vivo selon la forme et l'importance de l'infection urinaire. Une acidification permettrait une concentration tissulaire active alors que l'alcalinisation pourrait être employée dans le traitement des infections du tractus urinaire.

En résumé, la Nitrofuradantoine a une activité antibactérienne peu variable avec le pH ; on retiendra

un pH optimum d'action plutôt acide comme l'indique le tableau suivant :

TABLEAU N° XXII

Schema récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'Activité Bacteriostatique et Bactericide de la NITRO-FURANTOÏNE selon son pH optimum d'action

GERMES	ACTIVITE			pH optimum d'action (*)	AUTEURS
	in vitro		in vivo		
	stase	cidie			
Tous germes	.	.	.	indifférent	Brumfitt (1962)
Proteus		.		acide +	Mou (1962)
E. Coli		.		acide +	"
Strepto.		.		acide +	"
Etude dynam.			.	acide +	Woodruff (1962)

(*) les valeurs de pH sont considérées comme :

- . acides pour des pH $\leq 6,5$
- . neutres pour des pH = 7
- . basiques pour des pH $\geq 7,5$

(**) le nombre de croix indique l'importance de l'activité de l'antibiotique au pH optimum par rapport à l'importance de l'activité de l'antibiotique aux autres pH étudiés :

- +++ = beaucoup plus actif
- ++ = nettement plus actif
- + = plus actif

SULFAMETHOXAZOLE-TRIMETHOPRIME

Nous n'avons pas retrouvé d'étude sur le sujet qui nous concerne en tant qu'étude bacteriostatique et bactericide in vitro de ces produits. Un travail publié par P. Sharpstone (39) en 1969 est intéressant cependant à signaler. Il s'agit d'une étude dynamique in vivo de la clairance des deux constituants de l'association des deux sulfamides, comparée à la clairance de la créatinine endogène, selon le pH et le débit urinaire. On peut en déduire que :

- la clairance du Sulfamethoxazole s'élève avec le débit urinaire et est indépendante du pH urinaire si celui-ci est inférieur à 7 ; au contraire, elle s'élève avec un pH supérieur à 7 ;
- la clairance du Trimethoprim est peu modifiée par le débit urinaire mais s'élève largement avec l'acidification des urines.

L'explication donnée par l'auteur n'est qu'une hypothèse :

- pour le Sulfamethoxazole, acide faible avec un coefficient de dissociation autour de 5,7 : un pH alcalin entraînerait une dissociation. La fraction ionisée pourrait ainsi être relativement peu diffusible à travers la paroi épithéliale tubulaire et de ce fait l'excrétion dans l'urine accrue.
- pour le Trimethoprim, base faible au coefficient de dissociation à pH 7,3, l'augmentation de la clairance du produit en milieu acide s'explique par la dissociation en forme ionisée qui n'est pas réabsorbée par le tubule.

Ces hypothèses ont été confirmées par T. Bergan et Brodwall (5). De tout ceci, il ressort que l'association Sulfamethoxazole-Trimethoprim utilisée chez des patients urinaires extrêmes, modifie la proportion respective de Sulfamethoxazole et de Trimethoprim retrouvée dans les urines. Dans ces conditions, on s'éloigne de l'association synergique idéale. Celle-ci serait donc maximum à un pH neutre. (cf. tableau n° XXIII page suivante).

TABLEAU N° XXIII

Schema récapitulatif des données bibliographiques sur l'activité dynamique in vivo de l'association SULFAMETHOXAZOLE-TRIMETHOPRIME selon son pH optimum d'action

GERMES	ACTIVITE	pH optimum d'action (*)	AUTEURS
	in vivo		
	Clairance rénale		
Sulfamethoxazole	"	basique	Sharpstone (1969)
Trimethoprim	"	acide	et
Association	"	NEUTRE	Berlan (1972)

(*) les valeurs de pH sont considérées comme :

- . acides pour des pH $\leq 6,5$
- . neutres pour des pH = 7
- . basiques pour des pH $\geq 7,5$

Pour terminer cette étude bibliographique, nous allons reprendre en un court résumé les schémas récapitulatifs de chaque classe d'antibiotiques et antibactériens selon leur pH optimum d'action :

- Les Penicillines : les données sont contradictoires.

Pour un germe donné, pour une méthode expérimentale donnée de bacteriostase ou de bactericidie, on arrive à des pH optimum d'action contraires, ne permettant pas de définir une attitude pratique précise.

- Les Ampicillines : le pH optimum d'action est nettement acide quelque soit la méthode expérimentale utilisée et quelque soit le germe.

- La Carbenicilline : De la même façon, le pH optimum est acide.

- Les Cephalosporines : Les 2 études réunies ne montrent pas de variations d'activité bacteriostatique et bactericide avec le pH du milieu.

- La Streptomycine : Le pH optimum d'action bacteriostatique et bactericide est retrouvé neutre et surtout basique sur l'E. Coli, selon cinq auteurs. Sur les autres germes, l'influence du pH est très variable que ce soit en bacteriostase ou en bactericidie.

- La Kanamycine : son pH optimum d'action est basique, quelque soit le procédé utilisé.

- La Gentamicine : De même, le pH optimum d'action bacteriostatique et bactericide est basique.

- La Tobramycine : on retrouve un pH optimum d'action neutre et basique en bacteriostase.

- Les Polymyxines : La réponse est variable selon les auteurs et selon les germes. Pour un E. Coli, le pH optimum d'action bactericide est acide pour les uns et basique pour les autres.

- L'Erythromycine : Celle-ci semble plus active à pH basique en bacteriostase, notamment sur les bacilles Gram (-).
- La Novobiocine : au contraire, semble plus active à pH acide même sur les bacilles Gram (-), en bacteriostase et en bactericidie.
- Le Chloramphenicol : Son étude bactericide ne montre pas de pH optimum d'action.
- Les Tetracyclines : on note un certain accroissement d'activité bacteriostatique et bactericide à pH acide .
- La Nitrofuradantoïne : son activité bacteriostatique et bactericide varie peu avec le pH pour un auteur, mais s'accroît à pH acide pour les 2 autres.
- Le Sulfamethoxazole-Trimethoprim : le pH neutre semble être le pH optimum pour une action synergique de l'association in vivo.

En somme, si on reprend les principaux antibiotiques, l'exagération de l'activité antibactérienne des Ampicillines en milieu acide, ainsi que de la Gentamicine et de la Kanamycine en milieu alcalin est démontrée à la fois en bacteriostase et en bactericidie. L'exagération de l'activité de la Carbenicilline en milieu acide et de la Tobramycine en milieu alcalin n'a été prouvée que dans le seul domaine de la bacteriostase. Les Cephalosporines ont une activité bacteriostatique et bactericide indifférente aux variations du pH. Les Polymyxines et les Penicillines donnent des résultats très variables.

DEUXIEME PARTIE

Variations d'efficacité selon le pH urinaire

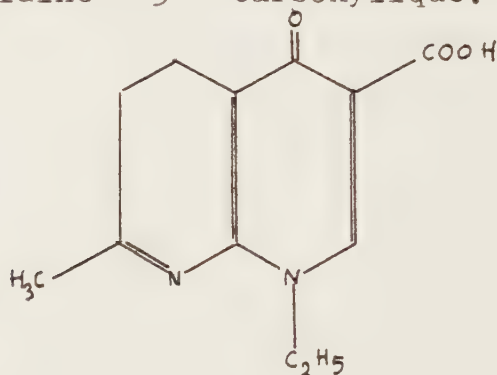
des Quinolones

Méthodes et Matériel d'étude

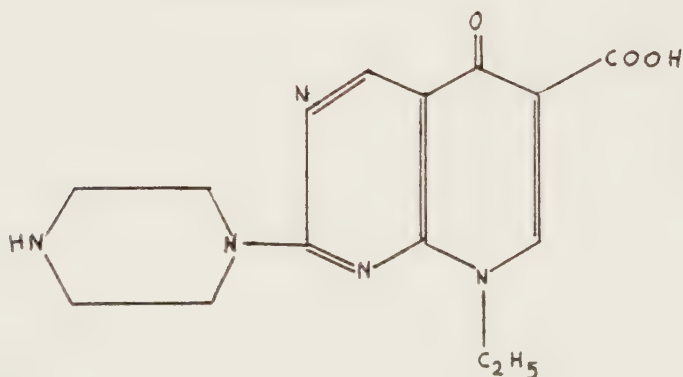
Résultats

Nous allons à présent aborder l'étude des QUINOLONES. Celles-ci constituent une famille d'agents antibactériens assez récents destinés surtout au traitement des infections urinaires. Il s'agit en effet de produits bactéricides, actifs sur les bacilles Gram (-) et à forte concentration urinaire. Les Quinolones dérivent d'une molécule de base : le noyau naphtyrine. Une fonction Carboxyl = - COOH commune aux différents produits semble jouer un rôle prépondérant dans l'activité bactéricide. Les trois produits sont :

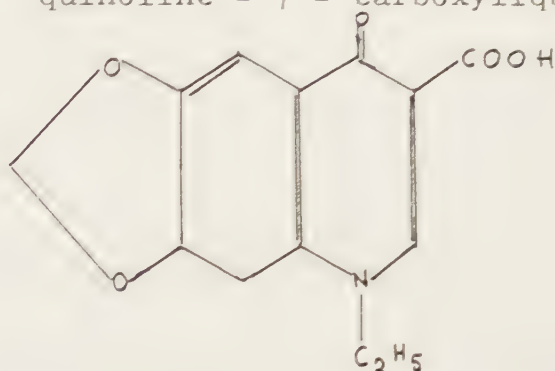
- 1'Acide Nalidixique : acide 1 - ethyl - 1,4 - dihydro - 7 - methyl - 4 oxo - 1,8 - naphtyridine - 3 - carboxylique.



- 1'Acide Pipemidique : acide piperazine - 2 - oxo - 5-ethyl - 8 - dihydro - 5,8 - pyrido (2,3 - d) - pyrimidine - 6 - carboxylique.



- 1'Acide Oxolinique : acide 5 - ethyl - 5,8 - dihydro -
8 - Oxo - 1,3 - dioxolo (4,5 g) -
quinoline - 7 - carboxylique.



Ce chapitre concerne l'étude expérimentale des variations d'efficacité selon le pH des 3 quinolones. Les expériences se sont déroulées en deux étapes. Les premières bases de cette thèse avaient fait l'objet d'un article publié en 1975 par le Professeur J. Monier et le Professeur B. François (52), sur l'activité in vitro, bactériostatique et bactericide de l'Acide Nalidixique en fonction du pH. Les résultats, comme nous le verrons plus loin, montraient un pH optimum acide pour le pouvoir bactériostatique et basique pour le pouvoir bactericide. C'est à partir de cette notion peu connue dans la littérature que nous avons repris ce sujet et l'avons étendu à deux autres quinolones : l'Acide Pipemidique et l'Acide Oxolinique. Le processus expérimental de départ a été quelque peu modifié, par l'utilisation de nouvelles méthodes mieux adaptées comme la méthode des millipores pour compter les germes survivants et par les mesures des C.M.I. sur un grand nombre de germes.

En bref, notre étude expérimentale a comporté les phases suivantes :

I - Pouvoir Bacteriostatique en fonction du pH

1) Mesure des diamètres d'inhibition sur neuf germes Gram (-) avec l'Acide Nalidixique.

2) Calcul des Concentrations Minima Inhibitrices (C.M.I.) en milieu solide sur 172 germes avec les trois quinolones : l'Acide Nalidixique, l'Acide Pipemidique, l'Acide Oxolinique.

II - Pouvoir Bactericide en fonction du pH

1) Nombre de survivants au bout de 6 heures de culture à trois concentrations d'Acide Nalidixique sur deux germes (E. Coli et P. Morganii).

2) Même étude par la méthode des millipores sur les deux germes avec les trois quinolones.

Nous allons reprendre plus en détail chaque phase de ce travail en décrivant les méthodes et matériel d'études dans un premier temps, puis les résultats de chaque expérience.

METHODES ET MATERIEL D'ETUDE

I - L'ETUDE DU POUVOIR BACTERIOSTATIQUE EN FONCTION DU PH

1) Débute par la mesure des Diamètres d'Inhibition provoquée par les disques d'Acide Nalidixique pour antibiogramme (dosés à 30 mcg par disque) sur milieu de Mueller-Hinton ajusté aux pH 5, 6, 7, 8, à l'aide de solutions de soude ou d'acide citrique. Les mesures des diamètres d'inhibition ont porté dans chaque série, sur 16 disques pour chacun des quatre pH étudiés et pour chacun des neuf germes suivants : Proteus Vulgaris, Enterobacter Aerogenes (3 pH seulement), Enterobacter Cloaca, Klebsiella Pneumonia, Escherichia Coli, Enterobacter Hafnia, Providencia, citrobacter, Proteus Morganii. Les numérations ont été effectuées après vingt-quatre heures d'étude à 37°, au moyen d'un pies à coulisse.

2) Un moyen plus fidèle de mesurer la bacteriostase est l'estimation de Concentration Minima Inhibitrice (C.M.I.) qui correspond à la concentration d'antibiotique nécessaire pour qu'aucune pousse apparente n'apparaisse dans le milieu de culture. Il s'agit ici d'une étude statistique de calculs de C.M.I. portant sur la sensibilité aux trois quinolones, d'une quantité importante de cultures microbiennes en milieu solide ajustées à 4 pH différents.

a) les germes :

172 germes ont été isolés à partir des urines le plus souvent, et la plupart étant sensibles aux doses normales des disques d'antibiotiques standards pour antibiogramme dosés à :

- 30 mcg pour l'Acide Nalidixique
- 25 mcg pour l'Acide Pipemidique
- 30 mcg pour l'Acide Oxolinique

Les germes sont :

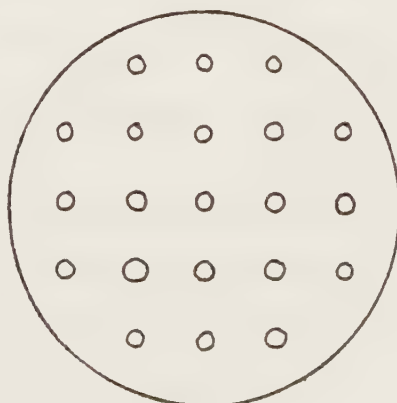
- 20 Enterobacters
- 20 Klebsiella
- 20 Citrobacter
- 18 Serratia
- 22 Proteus (20 mirabilis, 2 vulgaris)
- 12 Proteus morganii
- 8 Providencia
- 30 Escherichia Coli
- 20 Staphylocoques dorés
- 22 Moraxella

b) les milieux de cultures :

Le milieu utilisé pour la mesure des concentrations minima inhibitrices est le milieu de Mueller-Hinton gélosé ajusté aux pH 5, 6, 7, 8 (préparé par l'Institut Pasteur et conditionné en flacons de 100 cc) et le milieu de Mueller-Hinton ordinaire pour les témoins.

c) le matériel :

Les géloses ajustées au pH et à la dose d'antibiotique voulue, sont coulées dans les boîtes de Petri habituelles. Un ensemenceur multiple (à type de brosse à longues tiges de métal régulièrement réparties) permet un ensemencement simultané de 21 cultures microbiennes. Cet appareil est plongé dans 21 tubes à hémolyse répartis de la même façon et contenant les cultures microbiennes, puis il est posé délicatement et régulièrement sur la gélose de la boîte de Pétri :



d) les antibiotiques :

L'Acide Nalidixique se présente en solution (sous la forme de soluté injectable à 1 gramme pour 10 millilitres) et se dissout facilement dans l'eau distillée stérile.

L'Acide Pipemidique et Oxolinique sous forme de poudre sont solubles en milieu alcalin à pH 9. Ce qui ne fausse cependant pas les résultats car on part d'une solution mère très concentrée à 10 000 mcg/ml. Le pH des géloses contenant les dilutions des produits a été vérifié avant l'ensemencement et était respecté. La gamme de doses choisie est très large et construite autour de la dose standard des disques d'antibiotiques : 0,2 - 0,4 - 0,75 - 1,5 - 3 - 6 - 12,5 - 25 - 50 mcg/ml. Pour les souches plus résistantes : 50 - 75 - 100 - 125 - 150 mcg/ml jusqu'à 2 400 mcg/ml.

e) les techniques :

Les germes sélectionnés sont ensemencés en eau peptonée et mis en incubation 18 heures à 37°. Le lendemain, on fait une dilution 10^{-3} à partir de ce bouillon et on le répartit dans les tubes à hémolyse dans lesquels on plonge l'ensemencement multiple qu'on applique ensuite sur les géloses ajustées aux différents pH et doses. La lecture est effectuée après 18 heures d'étuve à 37°.

II - ETUDE DU POUVOIR BACTERICIDE EN FONCTION DU pH

Elle s'est déroulée en deux étapes dans le temps.

1) Numération des survivants

Une première mesure a été faite lors de l'étude de l'Acide Nalidixique ; elle consistait en des numérations comparatives de survivants au bout de six heures d'une culture de 5.10^6 germes/ml d'un E. Coli et d'un Proteus Morganii à des pH croissants en milieu solide de Mueller-Hinton ; d'abord sans Acide Nalidixique puis à des concentrations croissantes de produit : 5 - 8 - 10 mcg/ml sur l'E. Coli à des pH de 5, 6, 7 et 8 ; 5 et 10 mcg/ml sur

le *Proteus* à des pH 5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8. Les résultats ont été établis pour une concentration de produit donnée selon une courbe en histogramme des survivants en fonction du pH.

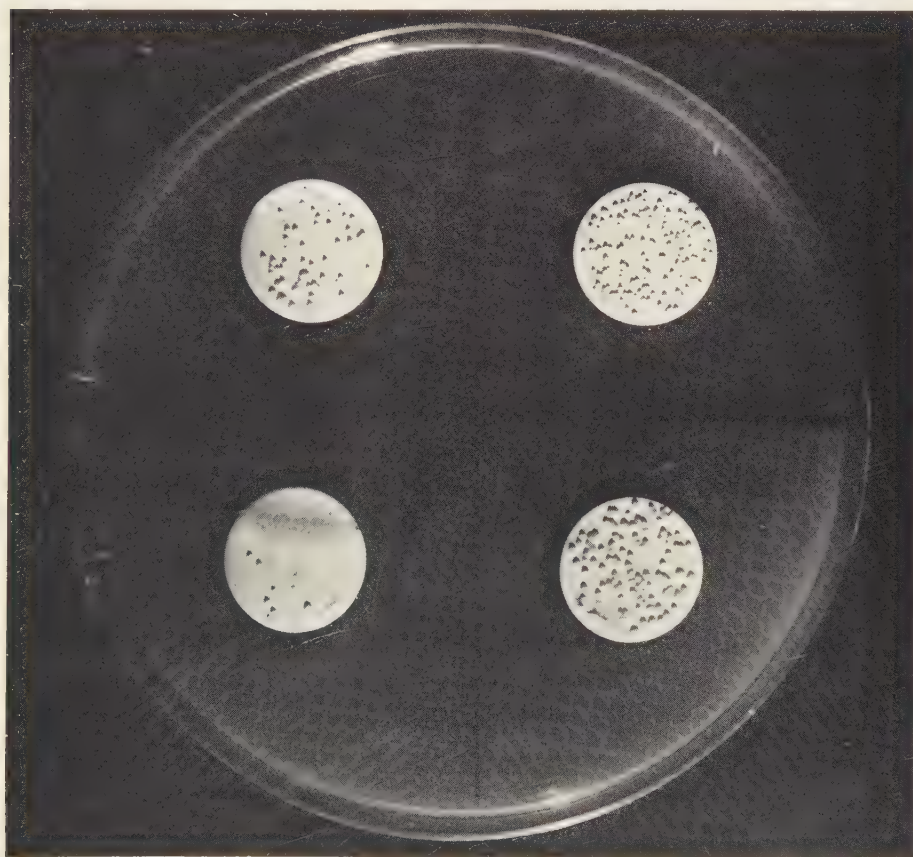
2) Nombre de survivants par la méthode des millipores

L'étude bactericide de l'Acide Nalidixique a été reprise plus tard pour les trois quinolones selon une méthode différente plus récente et plus précise : la méthode des millipores. Nous allons la décrire avec plus de précisions que les autres techniques :

- les suspensions bactériennes d'un *Escherichia Coli* et d'un *Proteus Morganii* sont réalisées en eau distillée à partir de cultures de 18 heures sur gélose trypticase soja. Elles sont ajustées à 2×10^6 germes/ml par mesure de la densité optique.
- les dilutions d'antibiotiques sont faites en utilisant les disques de l'Institut Pasteur. Le solvant est représenté par des bouillons glucosés à différents pH et à la concentration en antibiotiques double de la concentration finale à utiliser dans le test.
- la technique consiste à introduire dans les tubes à essais stériles, 5 ml des dilutions d'antibiotiques, puis à ajouter successivement 4,5 ml de bouillon glucosé à pH déterminé et 0,5 ml de la suspension de germes à 2×10^6 germes/ml. On laisse en contact six heures à l'étuve à 37°. Après ce temps d'incubation, on homogénéise le mélange et on prélève 0,1 ml de chaque tube que l'on introduit dans 9,9 ml d'eau distillée stérile. On filtre 5 ml du mélange précédent sur un millipore type HA 0,45 mcm. Après filtration de ces 5ml, on fait passer sur le millipore 5 à 10 ml d'eau distillée stérile pour éliminer toute trace d'antibiotique. Les membranes sont alors déposées sur des boîtes de Petri contenant de la gélose Mueller-Hinton et le tout est mis à l'étuve pendant vingt-quatre heures.
- les témoins sont réalisés à partir de la suspension à

2×10^6 , on réalise les concentrations suivantes du germe :
 $10^5 - 10^4 - 10^3 - 10^2$ germes/ml. On passe alors 5 ml de chacune de ces suspensions sur millipore et l'on cultive ensuite les germes arrêtés par le filtre comme précédemment.

- Lecture : après 24 heures d'étuve, les colonies apparues sur les membranes millipores, sont numérees pour les témoins et les suspensions traitées par les antibiotiques.



Photographie d'une boîte de Pétri contenant quatre pousses bactériennes sur les membranes millipores correspondant aux 4 pH pour une même dose.

RESULTATS

I - POUVOIR BACTERIOSTATIQUE EN FONCTION DU pH

1) Diamètre d'inhibition autour de disques d'Ac. Nalidixique

Les variations de la bacteriostase induites par le pH et jugées par les diamètres d'inhibition des disques chargés d'Acide Nalidixique (dosés à 30 mcg) sont rapportées dans le tableau n° XXIV (page suivante). Un phénomène identique est retrouvé dans tous les cas : la diminution du diamètre moyen d'inhibition au fur et à mesure que le pH augmente ; les différences observées sont globalement plus nettes de pH 5 à 6 et de pH 7 à 8 que de pH 6 à 7. Un exemple numérique complet des valeurs rencontrées est donné pour l'E. Coli étudié (le nombre entre parenthèses indique le nombre de fois où le même diamètre a été observé au cours de la série expérimentale) :

- pH 5 = 24 (1), 26 (7), 27 (5), 28 (3) ;
- pH 6 = 21 (3), 22 (4), 23 (1), 24 (5), 25 (3) ;
- pH 7 = 19 (1), 20 (2), 21 (1), 22 (4), 23 (4), 24 (4) ;
- pH 8 = 17 (1), 18 (4), 20 (5), 21 (6).

On retiendra de ce tableau n° XXIV, une augmentation régulière du diamètre d'inhibition au fur et à mesure que le pH diminue ; donc une activité bacteriostatique plus nette à pH acide pour tous les germes (ceci pour l'Acide Nalidixique).

Etude du pouvoir Bacteriostatique de l'ACIDE NALIDIXIQUE en fonction du pH sur 9 germes
Gram (-) (selon la mesure des diamètres d'inhibition)

	<u>pH 5</u>		<u>pH 6</u>		<u>pH 7</u>		<u>pH 8</u>	
P. Vulgaris	32,7 ^(a)	**	(b)	26,4	**	23,9	**	21,1
E. Aerogenes				22,5	*	21	NS	19,9
E. Cloacae	27	**		24,1	*	22,7	**	20
Klebsiella	28	**		25,2	NS	24,4	**	20,8
E. Coli	26,6	**		23,1	NS	22,2	**	19,7
E. Hafnia	30,7	**		27,6	*	26,4	**	23,6
Providencia	24,7	*		23,7	NS	22,9	NS	21,9
Citrobacter	26,6	**		23,3	**	21,6	**	20,6
P. Morganii	28,2	NS		27,2	NS	26,7	*	25,4

(a) = valeurs moyennes des diamètres d'inhibition (en mm) autour des disques d'Acide Nalidixique (30 mcg) ; les valeurs ont été arrondies à la première décimale ;
14 mesures ont été faites pour chaque germe à chaque pH.

(b) = les comparaisons de moyennes ont été effectuées par le test de rang de Wilcoxon :
** = $p < 0,01$ - * = $0,05 < p < 0,01$
NS = non significatif.

2) Concentrations Minima Inhibitrices (C.M.I.)

Une deuxième étude bacteriostatique sera objectivée par la détermination des concentrations minima inhibitrices des trois quinolones selon leur méthode globale statistique portant sur un grand nombre de germes : 172 germes étudiés aux pH 5, 6, 7, 8, et à des doses croissantes d'antibiotiques.

Les résultats sont portés dans des tableaux récapitulatifs pour chacun des trois produits :

- tableau n° XXV (a, b, c,) pour l'Acide Nalidixique
- tableau n° XXVI (a, b, c,) pour l'Acide Pipemidique
- tableau n° XXVII (a, b, c,) pour l'Acide Oxolinique.

Ils comportent :

- en abscisses : les doses de produit allant de 0,2 à 2 400
- en ordonnées : les 4 pH : 5, 6, 7, 8, pour chacun (mcg/ml,
des germes étudiés.
- les chiffres portés dans chaque colonne correspondent à la quantité de germes ayant la même valeur de concentration minima inhibitrice pour chaque pH.
- la colonne de droite correspond aux valeurs moyennes des C.M.I. pour la totalité des souches étudiées à chaque pH.

Nous pouvons constater globalement :

- pour l'Acide Nalidixique : un déplacement des chiffres vers les concentrations minima inhibitrices plus élevées au fur et à mesure que le pH s'élève ; donc une activité bacteriostatique plus importante à pH acide.
- pour l'Acide Pipemidique et Oxolinique des résultats contraires : c'est-à-dire un déplacement des chiffres vers des C.M.I. plus basses au fur et à mesure que le pH s'élève ; donc une activité bacteriostatique plus importante à pH basique.

Etude du pouvoir Bacteriostatique, exprimé en C.M.I., de l'Acide Nalidixique
en fonction de 4 pH sur 172 germes

pH	doses mg/ml germes	0,2	0,4	0,75	1,5	3	6	12,5	25	50	75	100	125	150	300	600	1200	2400	MOYENNE CMI (mcg/ml)
5	Enterobacter (20)				2*	16*	2*												3,15
6					16	2	2												2,10
7					2	16	2												3,15
8						2	16	2											6,35
5	Klebsiella (20)					10	10												4,50
6					13	7													2,02
7						16	4												3,60
8							12	8											18,60
5	Citrobacter (20)					10	8										2		123,90
6					8	4	6								2				33,00
7						10	8								2				33,90
8							12	6								2			127,35
5	Serratia (18)					6				2							**8		1 204,25
6					6										2		8		637,25
7						6									2	8			338,62
8						1	5								4		2	4	902,06

* nombre de germes ayant la même C.M.I.

** 2 souches ont une C.M.I. supérieure à 2 400 mcg/ml

Tableau n° XXV (b)

Etude du Pouvoir Bacteriostatique, exprimé en C.M.I., de l'ACIDE NALIDIXIQUE en fonction de 4 pH sur 172 germes.

pH	Doses germes	0,2	0,4	0,75	1,5	3	6	12,5	25	50	75	100	125	150	300	600	1200	2400	MOYENNE CMI (mcg/ml)
5	Proteus (22)					10*	12*												4,63
6				2	4	16													2,52
7	20 Mirabilis				2	8	12												4,50
8	2 Vulgaris					2	20												5,72
5	Proteus	8		2	2														0,50
6	Morganii	1	1	6	4														0,92
7	(12)			2	10														1,50
8				2	3	7													2,25
5	Providencia	4				2	2												2,35
6	(8)			1		3		4											7,46
7				1		2	1		1	1						2			160,96
8				1			3		1	1						2			161,71

* nombre de germes ayant la même C.M.I.

Tableau n° XXV (c)

Etude du Pouvoir Bacteriostatique, exprimé en C.M.I., de l'ACIDE NALIDIXIQUE
en fonction de 4 pH sur 172 germes.

pH	doses germes	0,2	0,4	0,75	1,5	3	6	12,5	25	50	75	100	125	150	300	600	1200	2400	MOYENNE CMI (mcg/ml)
5	E. Coli (30)				20*	6	4												2,40
6				10	16	2	2												1,65
7					20	8	2												2,20
8						6	22	2											5,83
5	Moraxella (22)	2	1		3	4	5	7											6,12
6					3	9	8	2											4,75
7					7	12	3												5,93
8						1	14	7											16,60
5	Staphylocoque Aureus (20)	1	1		8		3		7										10,29
6							8	11	1										10,52
7							1	12	7										16,50
8									10	10									37,50

* nombre de germes ayant la même C.M.I.

Tableau n° XXVI (a)

Etude du Pouvoir Bacteriostatique, exprimé en C.M.I., de l'ACIDE PIPEMIDIQUE en fonction de 4 pH sur 172 germes.

pH	doses germes	0,2	0,4	0,75	1,5	3	6	12,5	25	50	75	100	125	150	300	600	1200	2400	MOYENNE CMI (mcg/ml)
5	Enterobacter (20)								16*	4*									30,00
6						2	10	8											8,30
7					6	12	4												3,45
8				12	8														1,00
5	Klebsiella (20)								14	6									32,50
6							14	6											7,95
7					2	14	4												3,45
8					16	4													1,80
5	Citrobacter (20)								8	4									25,00
6						3	6		8	2									12,87
7					10	8			9										4,45
8				12	4	2		2											2,30
5	Serratia (18)								2	2				4				10**	72 400,00
6									4			10	2	2					119,44
7						3			6	7	2								36,60
8					4				12	2									22,50

* nombre de germes ayant la même C.M.I.

** 10 souches ont une C.M.I. supérieure à 2 400 mcg/ml

Tableau n° XXVI (b)

Etude du Pouvoir Bacteriostatique, exprimé en C.M.I., de l'ACIDE PIPEMIDIQUE en fonction de pH sur 172 germes.

pH	doses germes	0,2	0,4	0,75	1,5	3	6	12,5	25	50	75	100	125	150	300	600	1200	2400	MOYENNE CMI (mcg/ml)
5	Proteus (22)					* 2													13,90
6					2	10	10												4,22
7	20 mirabilis				4	18													2,72
8	2 vulgaris			2	4	16													2,52
5	Proteus					8													11,37
6	Morganii				7	4				1									3,95
7	(12)			8	4														1,00
8		1		5	6														1,06
5	Providencia																		50,00
6	(8)					1	2	2	4	2	2	2							26,80
7						2	2	2	2										11,62
8					2	2	2		2										8,87

* nombre de germes ayant la même C.M.I.

Tableau n° XXVI (c)

Etude du Pouvoir Bacteriostatique, exprimé en C.M.I., de l'ACIDE PIPÉMIQUE en fonction de 4 pH sur 172 germes.

pH	doses germes	0,2	0,4	0,75	1,5	3	6	12,5	25	50	75	100	125	150	300	600	1200	2400	MOYENNE CMI (mcg/ml)
5	E. Coli (30)							* 10	* 15	* 5									25,00
6						5	9	16											8,96
7				5	7	18													2,27
8				1	29														1,47
5	Moraxella (22)									2		2				10	8		722,70
6										4		6	2			10			320,40
7										4	8	4			2	4			190,00
8										8		6			2	6			236,30
5	Staphylocoque Aureus (20)								10	10									37,50
6								1	17	2									26,87
7								2	16	2									26,25
8								1	18	1									25,62

* nombre de germes ayant la même C.M.I.

Etude du pouvoir Bacteriostatique, exprimé en C.M.I., de l'ACIDE OXOLINIQUE en fonction de pH sur 172 germes.

pH	doses germes	0,2	0,4	0,75	1,5	3	6	12,5	25	50	75	100	125	150	300	600	1200	2400	MOYENNE CMI (mcg/ml)
5	Enterobacter (20)		[*] 4	[*] 16															0,68
6		8	12																0,32
7		6	14																0,34
8		8	12																0,32
5	Klebsiella (20)			14	6														0,97
6		1	10	9															0,54
7			13	7															0,52
8			12	8															0,54
5	Citrobacter (20)	6	1	4	6	1		2											2,08
6		3	8	4	3	1	1												1,01
7		7	5	6	2														0,54
8		8	4	6		2													0,68
5	Serratia (18)		1	2	4		2	3	4	2									14,30
6					3	2	9	4											6,36
7			3	1	2	4	4	4											6,15
8		1	3	5		5	4												2,45

* nombre de germes ayant la même C.M.I.

Tableau n° XXVII (b)

Etude du Pouvoir Bacteriostatique, exprimé en C.M.I., de l'ACIDE OXOLINIQUE
en fonction de 4 pH sur 172 germes.

pH	doses germes	0,2	0,4	0,75	1,5	3	6	12,5	25	50	75	100	125	150	300	600	1200	2400	MOYENNE CMI (mcg/ml)
5	Proteus	*	*	*															0,45
6	(22)	2	16	4															0,32
7	20 mirabilis	11	10	1															0,27
8	2 vulgaris	16	5	1															0,24
		18	4																
5	Proteus	5	3	4															0,43
6	Morganii	6	4	2															0,35
7	(12)	10	2																0,23
8		11	1																0,21
5	Providencia	3	1	2	1					1									6,70
6	(8)	3	2		2				1	1									5,21
7		2	1	3					1	1									5,06
8		1	5				1		1	1									4,15

* nombre de germes ayant la même C.M.I.

Tableau n° XXVII (c)

Etude du Pouvoir Bacteriostatique, exprimé en C.M.I., de l'ACIDE OXOLINIQUE en fonction de 4 pH sur 172 germes.

pH	doses germes	0,2	0,4	0,75	1,5	3	6	12,5	25	50	75	100	125	150	300	600	1200	2400	MOYENNE CMI (mcg/ml)
5	E. Coli (30)		25*	3*	2*														0,50
6		22	8																0,38
7		20	10																0,40
8		12	17	1															0,33
5	Moraxella (22)	1	1	7	8	5													1,64
6			7	12	2	1													0,89
7			3	14	5														1,03
8				4	17	1													1,57
5	Staphylocoque Aureus (20)		1	9	10														1,10
6			2	11	6		1												1,20
7				3	15	1	1												1,68
8						12	7	1											5,15

* nombre de germes ayant la même C.M.I.

Reprenons les résultats propres à chacune des trois quinolones.

L'Acide Nalidixique :

Pour tous les germes, le pH optimum d'action bactériostatique est acide : pH 6 plutôt que pH 5. En effet, pour la plupart, on constate à pH 6 une cassure dans le déplacement régulier des chiffres vers des C.M.I. plus élevées. C'est-à-dire que le pH optimum d'action est le pH 6, pH auquel correspond les C.M.I. les plus basses ; alors qu'il est reconnu qu'un pH très acide ralentit la pousse bactérienne en dehors de toute action médicamenteuse.

Etant connu que dans la pratique courante, les disques standard d'Acide Nalidixique pour antibiogramme sont dosés à 30 mcg chacun, de nombreux germes sélectionnés sont très sensibles à cet antibactérien. Ainsi :

- ont une C.M.I. inférieure à 10 mcg/ml : les *Proteus Mirabilis* et *Morganii*, les *Providencia* à pH 5 et 6, les *Enterobacters*, les *Klebsiella* sauf à pH 8, les *E. Coli*, les *Moraxella* sauf à pH 8 ;
- ont une C.M.I. inférieure à 30 mcg/ml : les *Staphylocoques* sauf à pH 8 ;
- les germes les moins sensibles (C.M.I. inférieure à 100mcg/ml) sont les *Providencia* à pH 7 et 8, les *Citrobacters* à pH 5 et 8 et surtout les *Serratia* qui ont une C.M.I. allant de plus de 300 à 1 200 mcg/ml. Quand on considère les germes les plus résistants, on note que :

- . pour les 8 *Providencia*, 2 souches sont sensibles à 600 mcg/ml d'Acide Nalidixique aux pH 7 et 8, alors que toutes les souches sont retrouvées sensibles à une dose supérieure ou égale à 12,5 mcg/ml aux pH 5 et 6.

- . pour les 20 *Citrobacters* 2 souches sont sensibles à 300 mcg/ml aux pH 6 et 7, et à 1 200 mcg/ml aux pH 5 et 8, alors que les 18 autres souches réagissent à des doses inférieures à 12,5 mcg/ml.

- . pour les 18 *Serratia*, on peut constater que 10 souches sont peu sensibles ; le pH optimum d'action étant pH 6 et 7, et le pH minimum d'action étant le pH 5.

L'Acide Pipemidique :

Pour tous les germes, le pH optimum d'action bacteriostatique est basique. L'activité du produit est en général régulièrement croissante de pH 5 à pH 8. Les C.M.I. les plus faibles sont à pH 8 sauf pour les Moraxella qui ont un pH optimum à 7. Le Staphylocoque a des valeurs de C.M.I. sensiblement égales de pH 6 à pH 8.

Cette étude montre une bonne sensibilité des germes à l'Acide Pipemidique (en pratique courante, les disques pour antibiogramme sont dosés à 25 mcg/ml). Ainsi :

- ont une C.M.I. inférieure ou égale à 10 mcg/ml : les Enterobacters, les Klebsiella, les Citrobacters, les Proteus sauf les Providencia, les E. Coli, ceci à pH 6, 7, et 8.
- ont une C.M.I. inférieure à 30 mcg/ml : les Serratia à pH 8, les Providencia et les Staphylocoques à pH 6, 7, 8.

Les germes les plus résistants sont les Moraxella dont la C.M.I. est à 190 mcg/ml au pH optimum d'action 7, et les Serratia dont 10 souches sur 18 restent résistantes à des doses de produit supérieures à 2 400 mcg/ml à pH 5. Il est intéressant de souligner pour ces derniers, que tous les germes deviennent sensibles à pH alcalin : la C.M.I. moyenne n'est plus qu'à 22,5 mcg/ml à pH 8.

L'Acide Oxolinique :

Pour tous les germes, le pH optimum d'action bacteriostatique est basique. On constate une activité du produit régulièrement croissante de pH 5 à pH 8, c'est-à-dire que les valeurs moyennes de C.M.I. diminuent régulièrement au fur et à mesure que le pH s'élève ; sauf pour les Staphylocoques et les Moraxella chez lesquels on observe le phénomène inverse.

Cette étude montre une très grande sensibilité de tous les germes à cet antibactérien (rappelons que les disques pour antibiogramme utilisés ici, sont dosés à 30 mcg/ml). Ainsi :

- ont une C.M.I. inférieure à 1 mcg/ml : les *Proteus mirabilis* et *morganii*, les *Enterobacter*, les *Klebsiella*, les *Citrobacter* à pH 7 et 8, les *E. Coli*.
- ont une C.M.I. inférieure à 2 mcg/ml : les *Staphylococcus* sauf à pH 8 et les *Moraxella*.
- ont une C.M.I. inférieure à 10 mcg/ml : les *Serratia* sauf à pH 5, les *Providencia*. Si on considère les chiffres correspondant au nombre de C.M.I. identiques de ces deux germes, on note des doses toujours inférieures à 50 mcg/ml même pour les souches les plus résistantes.

Si enfin, nous comparons l'activité des trois quinolones :

- nous retrouvons des résultats assez réguliers et reproductibles, compte tenu que l'étude a été menée parallèlement sur les trois produits, dans les mêmes conditions de temps, sur les mêmes souches.
- L'Acide Nalidixique et l'Acide Pipemidique ont une activité bacteriostatique sensiblement égale ; à ceci près que le pH optimum d'action est acide pour le premier et basique pour le second.
- L'acide Oxolinique est nettement plus actif : la plupart des souches sont sensibles à des doses inférieures à 10 mcg/ml au pH optimum basique.
- Parmi les germes connus comme résistants :

. Les *Providencia* sont plus sensibles à l'Acide Oxolinique (C.M.I. moyenne inférieure à 10 mcg/ml), puis à l'Acide Pipemidique (C.M.I. inférieure à 30 mcg/ml).

. Les *Moraxella* sont plus sensibles à l'Acide Oxolinique (C.M.I. inférieure à 2 mcg/ml), puis à l'Acide Pipemidique (C.M.I. inférieure à 10 mcg/ml aux pH 7 et 8), et à l'Acide Nalidixique (C.M.I. inférieure à 10 mcg/ml aux pH 5 et 6 mais supérieure à 160 mcg/ml aux pH 7 et 8).

. Les *Citrobacters* sont sensibles à l'Acide Oxolinique (C.M.I. inférieure à 1 mcg/ml aux pH 7 et 8), puis

à l'Acide Pipemidique (C.M.I. inférieure à 10 mcg/ml).

. Les Serratia sont les plus résistants aux quinolones ; mais l'Acide Oxolinique reste encore le plus actif, toutes les souches étant sensibles à des doses de produit inférieures à 50 mcg/ml (C.M.I. moyenne inférieure à 10 mcg/ml). Dix souches sur 18 restent résistantes (C.M.I. supérieure à 2 400 mcg/ml) à l'Acide Pipemidique à pH 5, mais la C.M.I. moyenne n'est plus qu'à 22,5 mcg/ml à pH 8.

. Les Staphylocoques, seuls germes Gram (+) étudiés ont une sensibilité à peu près égale aux trois quinolones (C.M.I. Moyenne inférieure à 30 mcg/ml).

II - POUVOIR BACTERICIDE EN FONCTION DU pH

1) Numération des survivants (avec l'ACIDE NALIDIXIQUE)

Les résultats des numérations de survivants après six heures de culture, qui apprécient le pouvoir bactericide de l'Acide Nalidixique, sont rapportés dans les tableaux n° XXVIII (sur l'Escherichia Coli) et XXIX (sur le Proteus Morganii) ; ainsi que dans les courbes en histogramme correspondantes : figure 11 (sur l'E. Coli) et figure 12 (sur le P. Morganii).

Tableau n° XXVIII

Activité Bactéricide de l'ACIDE NALIDIXIQUE en fonction du pH sur un E. Coli

	Sans Acide Nalidixique	En présence d'Acide Nalidixique		
		5 mcg/ml	8 mcg/ml	10 mcg/ml
pH = 5	$1,6 \cdot 10^6$	$388 \cdot 10^3$ (452, 394, 318)*	$225 \cdot 10^3$ (315, 212, 148)	$215 \cdot 10^3$ (272, 190, 183)
pH = 6	$600 \cdot 10^6$	432 (512, 411, 373)	95 (103, 93, 89)	72 (78, 48, 46)
pH = 7	$6\ 000 \cdot 10^6$	153 (220, 127, 112)	51 (59, 48, 46)	29 (35, 27, 25)
pH = 8	$2\ 800 \cdot 10^6$	15 (18, 17, 10)	0	0

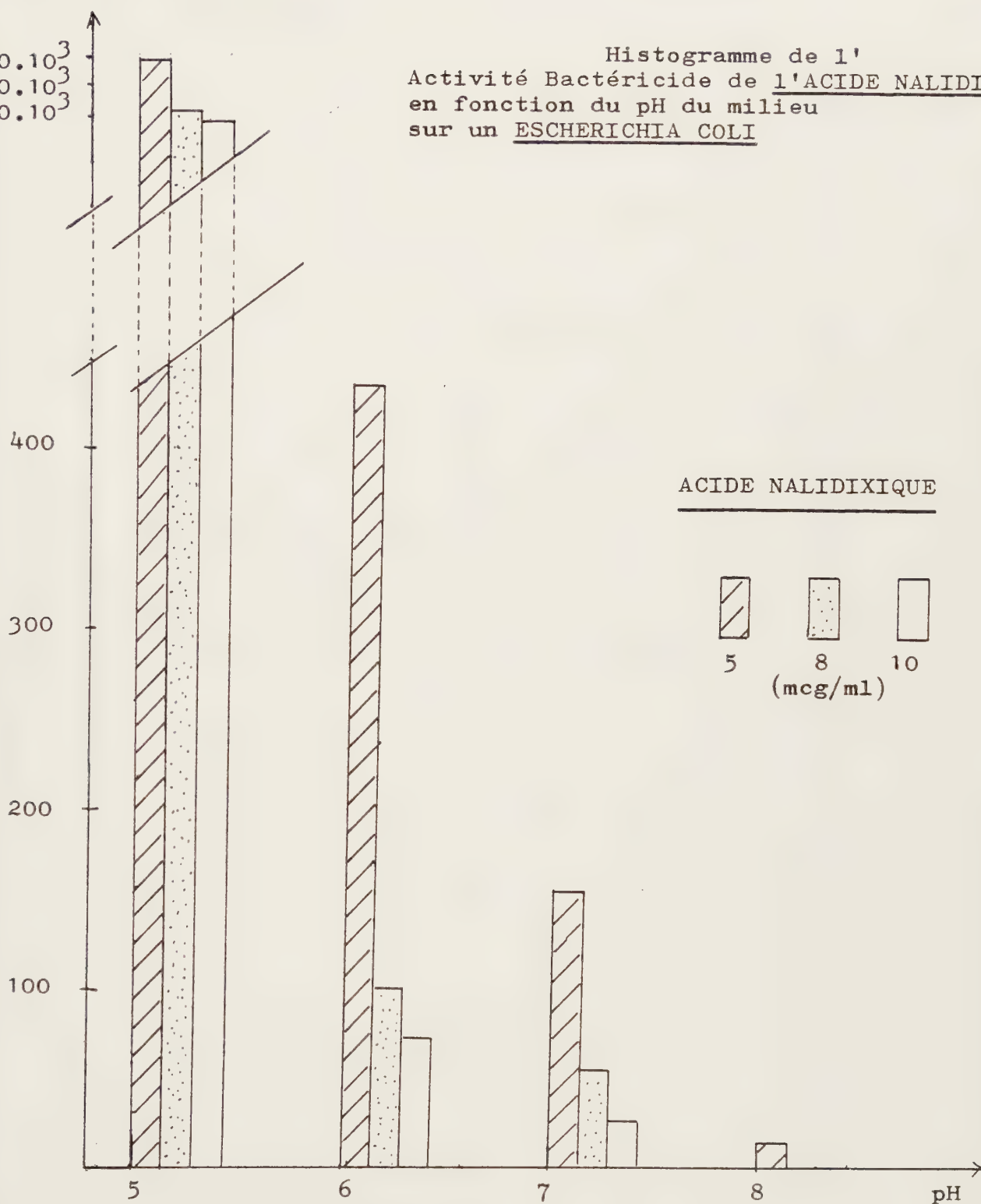
* les 3 chiffres entre parenthèses indiquent les 3 mesures faites pour un même pH et une même dose.

= Résultats des numérations de germes survivants après six heures de culture d'un Esche-
richia Coli, contenant au départ $5 \cdot 10^6$ g/ml, testée à pH 5, 6, 7, 8, sans Acide Nali-
dixique d'abord, puis à 5, 8, 10 mcg/ml d' Acide Nalidixique.

Nombre de survivants

Figure n° 11

Histogramme de l'
 Activité Bactéricide de l'ACIDE NALIDIXIQUE
 en fonction du pH du milieu
 sur un ESCHERICHIA COLI



Nombre de survivants après 6 heures de culture d'un E. Coli, contenant au départ $5 \cdot 10^6$ germes/ml, mise en contact avec 5, 8, 10 mcg/ml d'ACIDE NALIDIXIQUE, après ajustement du pH du milieu : 5, 6, 7, 8.

Activité Bactéricide de l'ACIDE NALIDIXIQUE en fonction du pH sur un *P. Morganii*

	Sans Acide Nalidixique	En présence d'Acide Nalidixique	
		5 mcg/ml	10 mcg/ml
pH = 5	$6 \cdot 10^6$	$5\ 100 \cdot 10^3$	$4\ 500 \cdot 10^3$
pH = 6	$10 \cdot 10^6$	$1\ 000 \cdot 10^3$	$550 \cdot 10^3$
pH = 6,5	$30 \cdot 10^6$	$150 \cdot 10^3$	$20 \cdot 10^3$
pH = 7	$400 \cdot 10^6$	$25 \cdot 10^3$	$17 \cdot 10^3$
pH = 7,5	$700 \cdot 10^6$	$21 \cdot 10^3$	$10 \cdot 10^3$
pH = 8	$500 \cdot 10^6$	$22 \cdot 10^3$	$5 \cdot 10^3$

= Résultats des numérations de germes survivants après six heures de culture d'un *Proteus Morganii*, contenant au départ $5 \cdot 10^6$ germes/ml, testée à pH 5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, sans acide Nalidixique, puis à 5 et 10 mcg/ml d'Acide Nalidixique.

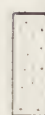
Nombre de survivants

Figure n° 12

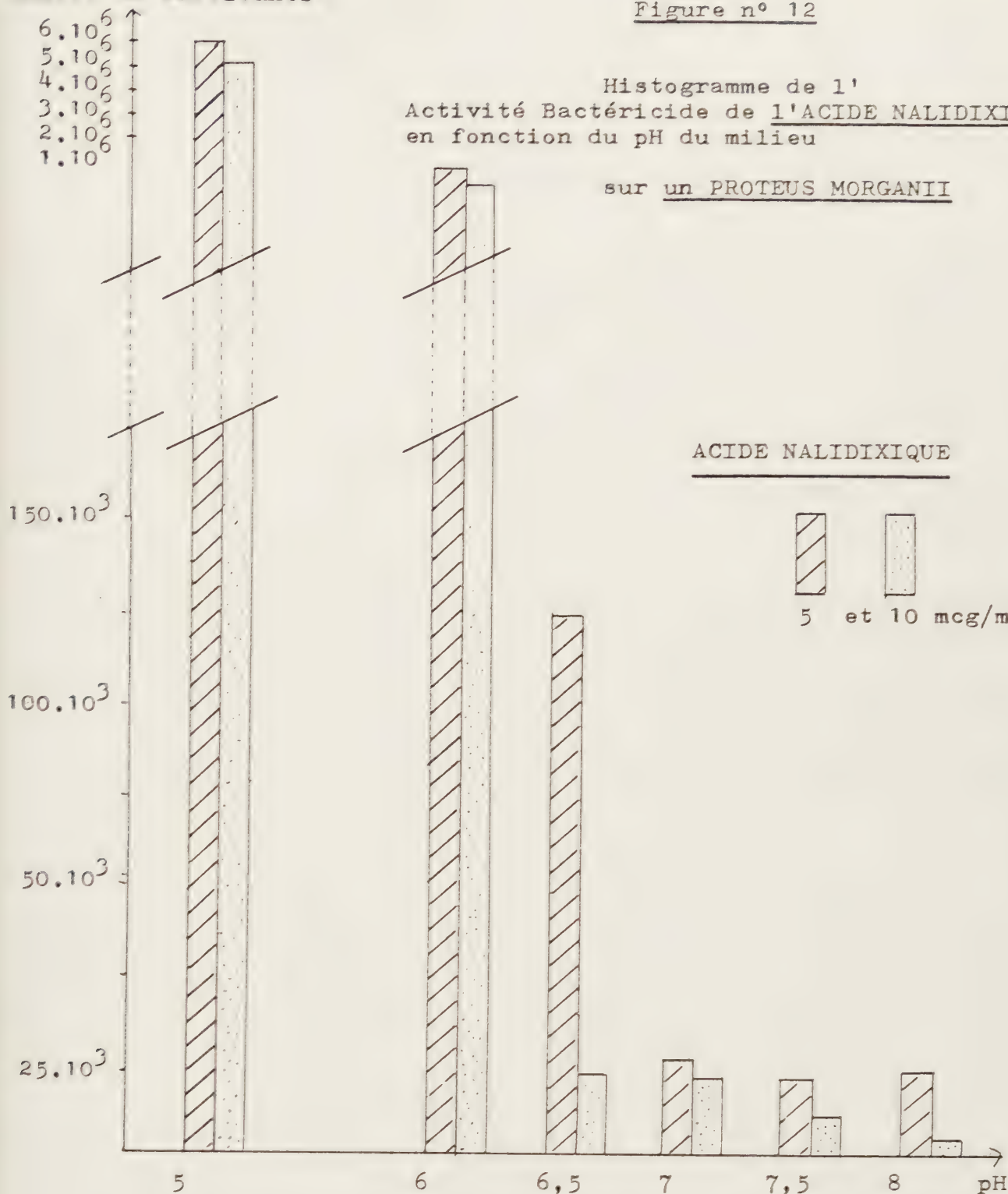
Histogramme de l'
Activité Bactéricide de l'ACIDE NALIDIXIQUE
en fonction du pH du milieu

sur un PROTEUS MORGANII

ACIDE NALIDIXIQUE



5 et 10 mcg/ml



Nombre de survivants après six heures de culture d'un *Proteus Morganii*, contenant au départ 5.10^6 germes/ml; mise en contact avec 5 et 10 mcg/ml d'ACIDE NALIDIXIQUE, après ajustement du pH du milieu : 5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8.

Etant donné que la culture contenait au départ $5 \cdot 10^6$ germes par millilitre, il apparaît qu'en l'absence de tout produit la pousse bactérienne est gênée à pH 5 surtout pour l'E. Coli :

- $1,6 \cdot 10^6$ germes/ml pour l'E. Coli,
- $6 \cdot 10^6$ germes/ml pour le P. Morganii.

A ce pH 5, il n'y a pratiquement pas d'effet bactéricide de l'Acide Nalidixique sur le P. Morganii et un très faible effet sur l'E. Coli quelque soit la dose :

- $388 \cdot 10^3$ g/ml pour l'E. Coli à 5 mcg/ml,
- $215 \cdot 10^3$ g/ml pour l'E. Coli à 10 mcg/ml,
- $5,1 \cdot 10^3$ g/ml pour le P. Morganii à 5 mcg/ml,
- $4,5 \cdot 10^3$ g/ml pour le P. Morganii à 10 mcg/ml.

Par contre, le pouvoir bactericide est remarquablement accru par l'élévation du pH. Si on considère les facteurs de réduction du nombre de survivants par passage d'un pH inférieur à un pH supérieur (5 à 6, 6 à 7,...), les facteurs de réduction les plus élevés sont obtenus lors du passage pH 5 à pH 6 pour l'E. Coli et pH 6 à PH 7 pour le P. Morganii :

F. de réduction	Acide Nalidixique		
	5 → 6	6 → 7	7 → 8
E. Coli (1)	<u>898,14</u> *	2,82	10,20
	(2) <u>2986,11</u>	2,48	0
P. Morganii (1)	5,10	<u>32,35</u>	1,13
	(2) 8,18	<u>40,00</u>	3,40

* facteurs de réduction du nombre de germes survivants par passage d'un pH inférieur à un pH supérieur, pour une dose donnée de produit :

- (1) : dose de produit = 3 mcg/ml
- (2) : dose de produit = 6 mcg/ml

Le pH optimum d'action bactericide est, bien sûr, le pH7 et surtout le pH 8 avec un nombre de survivants inférieur à 15 pour l'E. Coli, et égal à 22 000 à 5 mcg/ml et 5 000 à 10 mcg/ml pour le P. Morganii. Dans son ensemble le Proteus Morganii est moins sensible que l'E. Coli à l'Acide Nalidixique. La décroissance du nombre de germes est assez régulière, comme peuvent le mettre en valeur les figures 11 et 12. Si on considère les résultats du nombre de survivants aux 2 doses de produit : 5 et 10 mcg/ml, on note un pouvoir bactéricide très légèrement supérieur à la dose maximum. Bien que chaque série expérimentale ait porté sur un nombre très faible de mesures, aucune des distributions observées ne se recoupe. Ce dernier fait atteste de la régularité du phénomène observé.

2) Nombre de survivants par la méthode des millipores

La seconde étude de bactéricidie en fonction du pH sur les deux germes : Proteus Morganii et Escherichia Coli, a été faite avec les trois quinolones à deux doses différentes selon la méthode des millipores décrite plus haut page 70.

Les résultats rapportés dans les tableaux XXX et XXXI, et leurs figures correspondantes : 13, 14, 15, confirment un accroissement d'activité bactericide pour les trois produits à pH basique. (cf. pages 96 à 100).

Dès le pH5, on observe un pouvoir bactericide très important avec des numérations de germes inférieures à 3 200 pour les plus élevées (les témoins étant respectivement 1 750 000 g/ml pour le Proteus Morganii et 1 340 000 g/ml pour l'Escherichia Coli.

En considérant les facteurs de réduction du nombre de germes lors des changements de pH comme le montre le tableau ci-après:

	Ac. Nalidixique			Ac. Pipemidique			Ac. Oxolinique		
Passage pH	5→6	6→7	7→8	5→6	6→7	7→8	5→6	6→7	7→8
E. Coli (1)	4,77*	5,23	6,50	<u>20,83</u>	1,60	2,50	<u>300</u>	0	2
E. Coli (2)	<u>28</u>	1,25	4	<u>22,38</u>	2,48	6,75	<u>87,50</u>	0	0
P. Morganii (1)	1,01	<u>27,24</u>	23	<u>151,42</u>	1,40	5	<u>640</u>	1,66	1,50
P. Morganii (2)	8,15	4,08	7,50	<u>70,37</u>	1,35	2,86	<u>520</u>	1,16	1,50

* Facteurs de réduction du nombre de germes survivants par passage d'un pH inférieur à un pH supérieur, pour une dose donnée de produit :

- (1) 3 mcg/ml pour l'Acide nalidixique et Oxolinique
- 2 6 mcg/ml pour l'Acide Pipemidique
- (2) 6 mcg/ml pour l'Acide Nalidixique et Oxolinique
- 12 mcg/ml pour l'Acide Pipemidique

- pour l'Acide Nalidixique, nous retrouvons les facteurs de réduction les plus élevés lors du passage de pH 5 à pH 6 pour l'E. Coli (à 6 mcg/ml) et de pH 6 à pH 7 pour le P. Morganii.

- pour l'Acide Pipemidique et Oxolinique, ils se trouvent tous très élevés lors du passage de pH 5 à pH 6 quelque soit le germe et la dose. C'est en raison de la chute du nombre de germes très importante entre ces deux pH, que nous avons dû exprimer les résultats sur les histogrammes selon une courbe semi-logarithmique afin de réduire l'échelle des survivants à pH acide.

Pour les trois quinolones le pouvoir bactericide est maximum à pH 8 avec des numérations inférieures ou autour de 10 germes/ml. En comparant les résultats des trois produits, on note une activité sensiblement égale pour les trois :

- l'Acide Nalidixique serait légèrement moins actif surtout sur le *Proteus Morganii*.
- l'Acide Oxolinique serait le plus actif, car à résultats sensiblement égaux, l'Acide Pipemidique a été testé à des doses doubles : 6 et 12 mcg/ml au lieu de 3 et 6 mcg/ml.

Pour ces deux derniers antibactériens : Acide Oxolinique et Pipemidique, on remarque sur les histogrammes une action plus nette à la plus faible dose quelque soit le pH. Les résultats avaient été vérifiés et le phénomène se retrouve régulièrement. De plus les différences du nombre de survivants sont assez minimales pour en retenir un intérêt thérapeutique,

Quant au germe, le *Proteus Morganii* est moins sensible que l'*E. Coli* dans l'ensemble, surtout vis-à-vis de l'Acide Nalidixique et Pipemidique.

Ces expériences bien que très fidèles et reproductibles ne permettent pas cependant de tirer des conclusions générales, l'étude bactéricide ayant été faite à partir d'une souche de *E. Coli* et une souche de *Proteus Morganii*. Nous retiendrons un pH optimum d'action bactéricide maximum à pH 8 avec une chute très importante du nombre de germes survivants dès le passage de pH 5 à 6 pour l'Acide Pipemidique et Oxolinique et pH 6 à 7 pour l'Acide Nalidixique.

Tableau n° XXX

Activité Bactéricide de l'ACIDE NALIDIXIQUE, L'ACIDE PIPEMIDIQUE, L'ACIDE OXOLINIQUE
en fonction du pH du milieu sur un PROTEUS MORGANII
(méthode des millipores)

Témoins PROTEUS MORGANII : 1 750 000 germes/ml **						
	ACIDE NALIDIXIQUE		ACIDE PIPEMIDIQUE		ACIDE OXOLINIQUE	
	3 mcg/ml	6 mcg/ml	6 mcg/ml	12 mcg/ml	3 mcg/ml	6 mcg/ml
pH 5	1 900 *	1 500	3 200	2 600	1 060	1 900
pH 6	1 880	184	5	7	7	27
pH 7	69	45	3	6	5	20
pH 8	3	6	2	4	1	7

* résultats des numérations de germes survivants après six heures de contact avec des doses de 3 et 6 mcg/ml d'acide Nalidixique et Oxolinique et 6 et 12 mcg/ml d'acide Pipemidique.

** la culture contenait au départ $2 \cdot 10^6$ Proteus Morganii/ml

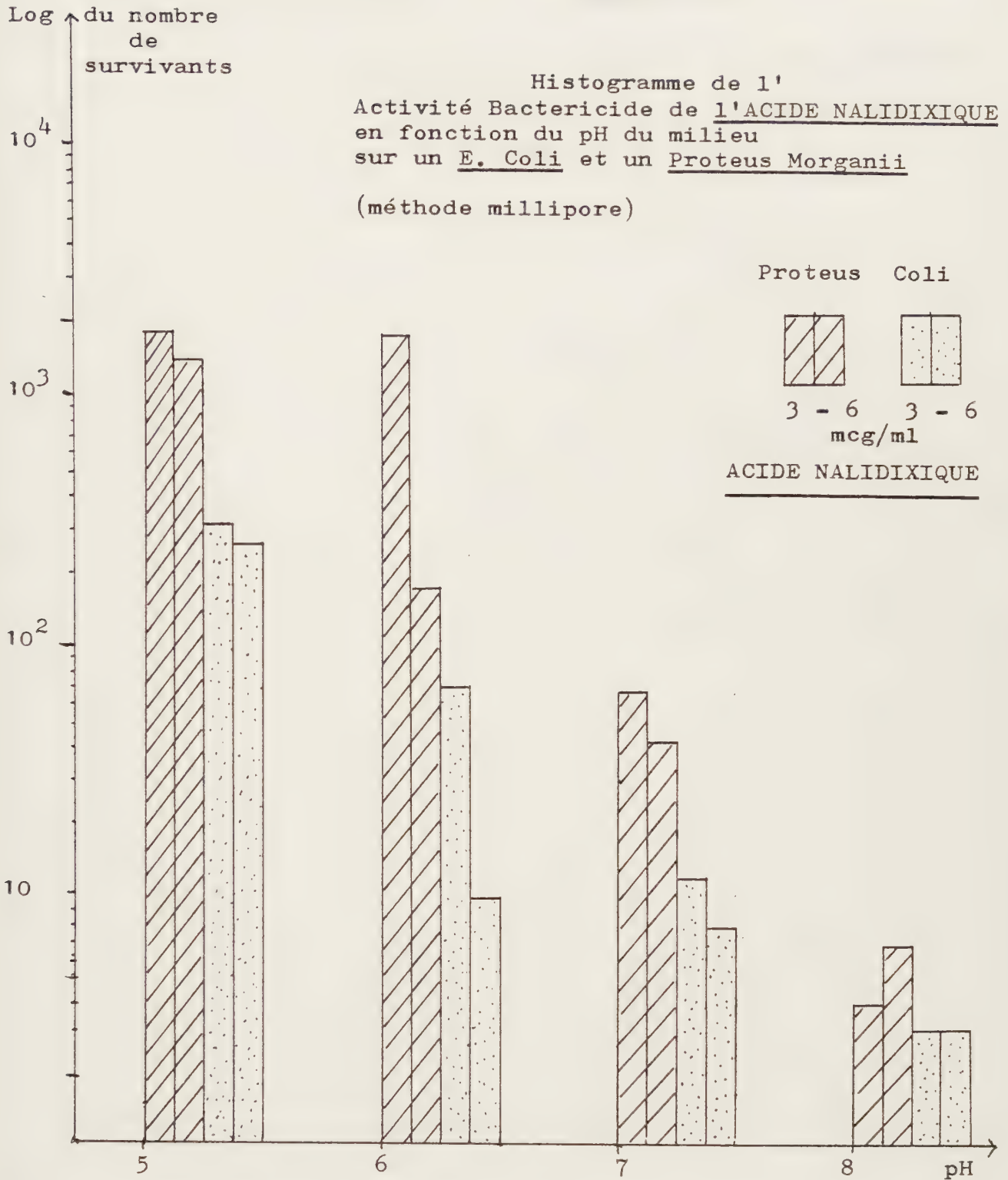
Activité Bactéricide de 1'ACIDE NALIDIXIQUE, 1'ACIDE PIPEMIDIQUE, 1'ACIDE OXOLINIQUE
 en fonction du pH du milieu sur un ESCHERICHIA COLI
 (méthode des millipores)

Témoins <u>ESCHERICHIA COLI</u> : 1 340 000 germes/ml **						
	ACIDE NALIDIXIQUE		ACIDE PIPEMIDIQUE		ACIDE OXOLINIQUE	
	3 mcg/ml	6 mcg/ml	6 mcg/ml	12 mcg/ml	3 mcg/ml	6 mcg/ml
pH 5	325*	280	300	350	1 000	1 500
pH 6	68	10	1	4	48	67
pH 7	13	8	0	2	30	27
pH 8	2	2	0	0	12	4

* résultats des numérations de germes survivants après six heures de contact avec des doses de 3 et 6 mcg/ml d'acide Nalidixique et Oxolinique et 6 et 12 mcg/ml d'acide Pipemidique.

** la culture contenait au départ 2 . 10⁶ E. Coli/ml

Figure n° 13



Histogramme du nombre de survivants (exprimés selon une courbe semi-logarithmique) d'une culture d'un E. Coli et d'un P. Morganii, contenant au départ $2 \cdot 10^6$ germes/ml, mise en contact 6 heures à 3 et 6 mcg/ml d'ACIDE NALIDIXIQUE, après ajustement du pH du milieu : 5, 6, 7, 8.

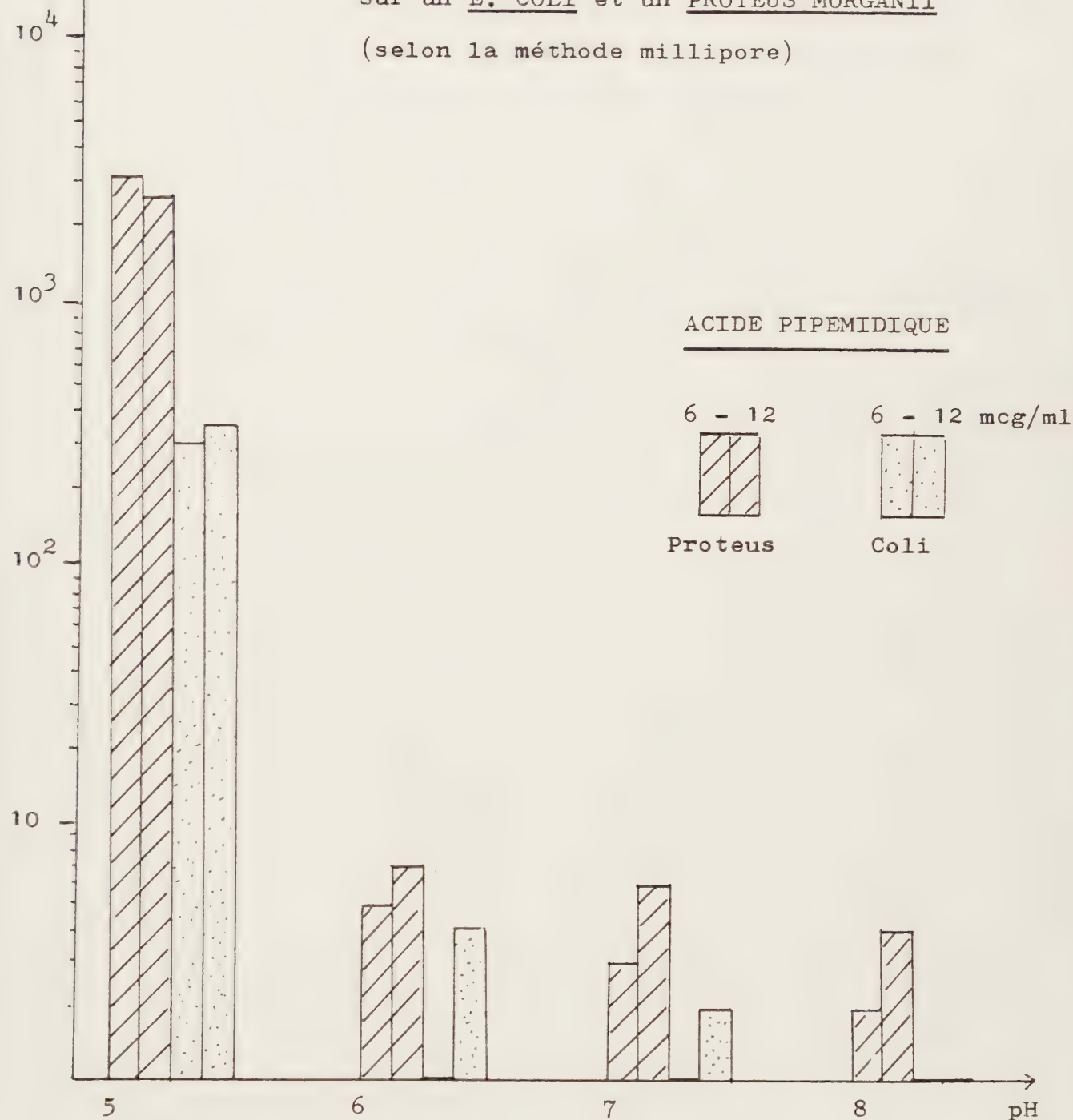
Figure n° 14

Log du nombre de survivants

Histogramme de 1'

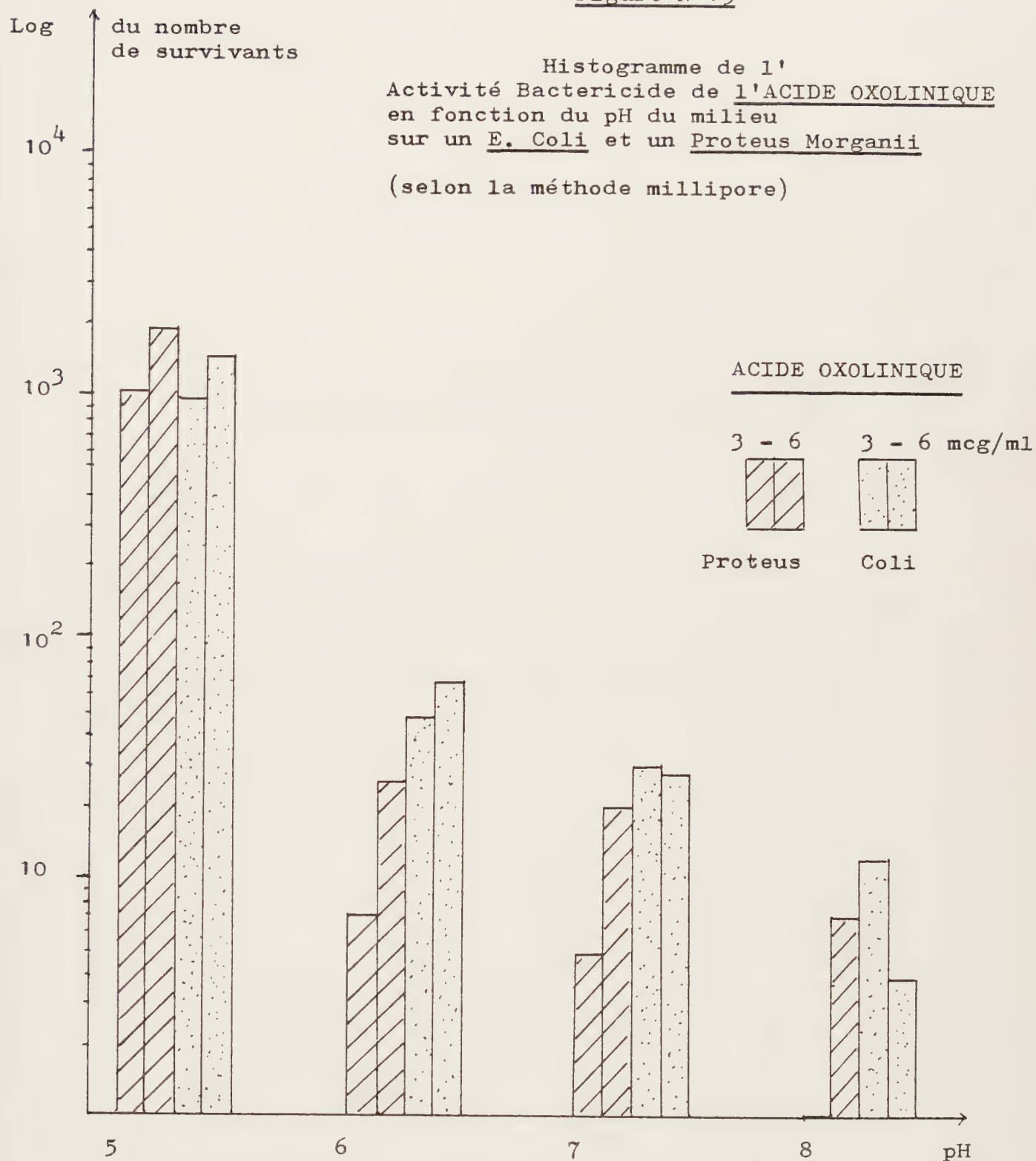
Activité Bactericide de l'ACIDE PIPEMIDIQUE
 en fonction du pH du milieu
 sur un E. COLI et un PROTEUS MORGANII

(selon la méthode millipore)



Histogramme du nombre de survivants (exprimés selon une courbe semi-logarithmique) d'une culture d'un E. Coli et d'un P. Morganii, contenant au départ 2×10^6 g/ml, et mise en contact 6 heures à 6 et 12 mcg/ml d'ACIDE PIPEMIDIQUE, après ajustement du pH du milieu : 5, 6, 7, 8.

Figure N°15



Histogramme du nombre de survivants (exprimés selon une courbe semi-logarithmique) d'une culture d'un E. Coli et d'un P. Morganii, contenant au départ $2 \cdot 10^6$ g/ml, mise en contact 6 heures à 3 et 6 mcg/ml d'ACIDE OXOLINIQUE, après ajustement du pH du milieu : 5, 6, 7, 8.

TROISIEME PARTIE



Interprétation, Commentaires et Discussion

Au cours de cette étude in vitro, nous obtenons pour l'Acide Nalidixique des résultats opposés en ce qui concerne l'effet du pH sur la bacteriostase et la bactéricidie. En effet, alors que la bactéricidie augmente constamment avec l'élévation du pH, la bacteriostase évolue de façon presque inverse. A pH 5, la C.M.I. est habituellement plus élevée qu'à pH 6 qui semble être le pH optimum d'action bacteriostatique. Mais ensuite en faisant croître le pH, la C.M.I. augmente en même temps que le pH.

Pour l'Acide Pipemidique et Oxolinique, cette discordance n'existe pas et bacteriostase et bactéricidie croissent lorsque le pH devient de plus en plus basique.

Les recherches bibliographiques effectuées à ce sujet ont rarement fourni des références dont le titre mentionne une étude consistante de l'influence du pH sur l'activité antibactérienne des trois quinolones étudiées. Dans la plupart des articles, cet aspect est envisagé dans le texte mais souvent il ne s'agit que de quelques lignes tout au plus un paragraphe.

l'Acide Nalidixique - NEGRAM^r

L'Acide Nalidixique est le premier représentant des quinolones synthétisé en 1962. En 1963, au cours d'une étude bactériologique sur ce produit, W. H. Deitz (11) et ses collaborateurs étudient entre autres l'effet du pH sur l'activité bactériostatique de l'Acide Nalidixique. Il s'agit d'une mesure des C.M.I. faite sur 73 germes Gram (-) et (+), mis en contact avec des doses croissantes de produit à des pH augmentant de 4,5 à 8,0 à 37° pendant 16 à 18 heures ou plus selon les germes. Il semblerait que le pH acide soit plus favorable à une diminution de la croissance des germes. Une grosse variation de pH ne fait pas varier

fortement l'activité bacteriostatique du produit. La C.M.I. est à peu près quatre fois plus élevée à pH 8 qu'à pH 5. Aucune différence valable n'est notée entre le pH 4,5 et le pH 7,0, (ceci à propos d'un E. Coli)

Tableau n° XXXII

Activité Bacteriostatique de l'ACIDE NALIDIXIQUE en fonction du pH, sur un E. Coli, exprimée en C.M.I. (11)

pH	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
4.5	0.75
5.0	1.00
5.5	0.75
6.0	1.00
6.5	1.00
7.0	1.00
7.5	2.50
8.0	2.50

En 1970, Jun Igari (19) et ses collaborateurs notent une activité à peu près égale aux pH 6 et pH 8. Il s'agissait d'une mesure des germes survivants à partir d'une quantité connue d'E. Coli par millilitre, mis en contact à deux doses de produit, pendant 4 à 24 heures.

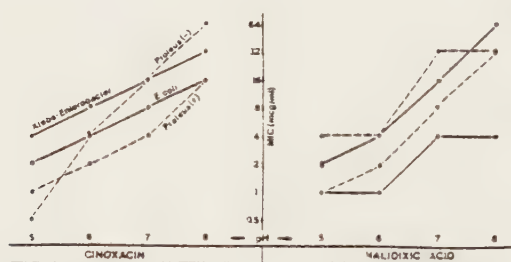
Shortgen (38) et ses collaborateurs ont publié en 1972, un chapitre très détaillé sur la bactériologie et la pharmacologie in vivo et in vitro de ce produit dans un ouvrage de réanimation et de médecine d'urgence. Ils observent bien une activité bactéricide sur les Gram(-) en particulier sur les Enterobacters souvent multirésistants mais sans faire intervenir le rôle du pH. Par contre, un point intéressant peut être noté : le NEGRAM^F a une large élimination rénale (90 à 100 %), sous formes libres actives (26 %) et glycuco-conjuguées inactives (76 %). Hors, l'excrétion des formes libres est légèrement augmentée par surcharge alcaline.

Enfin, une autre publication mentionne l'influence du pH au cours d'une étude comparée de deux quinolones l'Acide Nalidixique et la Ginoxacine, effectuée par Helen Giamarellou et Georges Jackson (15) en 1975. Il s'agit d'une étude bactériostatique à partir d'une mesure des

C.M.I. en milieu liquide et solide faite à partir de cultures de 10^6 germes Gram (-) par ml. Pour les deux produits, un accroissement du pH diminue nettement la sensibilité des germes. Pour l'Acide Nalidixique, les valeurs de C.M.I. sont stables de pH 5 à 6 et de pH 7 à 8 pour le Proteus Indol (+) et le E. Coli, et s'accroissent nettement de pH 6 à 7 pour les 4 germes : Klebsiella -Enterobacter, E. Coli, Proteus Mirabilis Indol (+) et Indol (-), comme nous le montre la figure 16 :

Figure n° 16

Comparaison de l'Activité Bacteriostatique de l'Acide Nalidixique et de la Cinoxacine en fonction du pH du sur 4 germes Gram (-), exprimée en C.M.I. (15)



En somme, nous retiendrons une accentuation moyenne du pouvoir bacteriostatique de l'Acide Nalidixique par un pH acide. La seule étude du pouvoir bactericide ne montre pas de variations d'activité avec le pH. (cf. le tableau n° XXXIII).

TABLEAU N° XXXIII

Schema récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'Activité Bacteriostatique et Bactericide de l'ACIDE NALIDIXIQUE selon son pH optimum d'action

GERMES	ACTIVITE			pH optimum d'action (*)	AUTEURS
	in vitro		in vivo		
	stase	cidie			
G. Divers	.			acide + (**)	Deitz (1963)
E. Coli		.		indifférent	Igari (1970)
	.			acide ++	Giamarellou(1975)
Klebsiella	.			acide ++	"
Enterobacter	.				
Proteus Mib.					
- Indol +	.			acide ++	"
- Indol -	.			acide ++	"

(*) les valeurs de pH sont considérées comme :

- . acides pour des pH $\leq 6,5$
- . neutres pour des pH = 7
- . basiques pour des pH $\geq 7,5$

(**) le nombre de croix indique l'importance de l'activité de l'antibiotique au pH optimum par rapport à l'importance de l'activité de l'antibiotique aux autres pH étudiés :

- +++ = beaucoup plus actif
- ++ = nettement plus actif
- + = plus actif

L'acide Pipemidique - PIPRAM^r

L'Acide Pipemidique est une médication nouvelle (1974) du groupe des quinolones très intéressante en milieu néphrologique et urologique pour plusieurs raisons :

- une facilité d'emploi : voie orale en 2 prises par jour ;
- une bonne tolérance par le patient ;
- une élimination urinaire très importante sous forme active ;
- une activité bactéricide supérieure à l'Acide Nalidixique sur les bacilles Gram (-), notamment sur les Pseudomonas, Colibacilles, et le groupe Proteus-Providencia, souvent multirésistants.
- un risque de résistance par mutation chromosomique plus faible que pour les autres quinolones.

Son action ne semble pas être modifiée par le milieu (serum - Héparine et pH pour beaucoup d'auteurs) C'est ce qui ressort d'une exploration faite dans le service de bactériologie des laboratoires Roger et Bellon par P. de Lajudie (12). L'étude in vitro, très complète, a porté sur 187 souches de germes, avec mesure des C.M.I. (déterminées par dilutions successives en milieu gélosé), et des C.M.B. par numérations de germes survivants en milieu solide. Mais dans l'article original publié dans le Journal de Pharmacologie Clinique, un petit paragraphe seulement est consacré à l'effet du pH sur l'activité du produit (page 159). "Dans les limites de 5 à 9, le pH des solutions n'a pas d'influence sur l'activité antibactérienne de l'Acide Pipemidique. Des solutions à pH 5, 6, et 9 ont été conservés à la température ambiante pendant six mois sans baisse de titre". Le titre d'une solution d'antibiotique étant l'inverse des C.M.I., nous pouvons supposer qu'il s'agit de la bacteriostase seulement. Nous manquons de renseignements sur le détail des expériences dans ce domaine précis.

Un supplément de la Semaine des Hôpitaux de Juin 1976 est entièrement consacré à l'Acide Pipemidique. Parmi tous les articles publiés à son sujet, un seul rédigé par Tacquet (51), page 52 - 57, mentionne l'effet du pH et ceci dans l'introduction en confirmant bien que l'activité du produit était indifférente à la valeur du pH sans aucune précision sur le mode d'action.

Une étude japonaise de Masanao Shimizu (40), faite en 1975, signale également un pH optimum d'action indifférent pour l'Acide Pipemidique. Il s'agit d'une étude bacteriostatique par mesure des C.M.I. (méthode par dilutions successives de raison 2 en milieu gélosé et ensemencée secondairement sur boîtes de Petri contenant le milieu nutritif d'agar avec différentes doses de produits et ajusté à différents pH allant de 6,0 à 8,0). Les germes étudiés sont : un Staphylocoque doré, un E. Coli et un Pseudomonas Aeruginosa. Les valeurs de C.M.I. restent identiques quelque soit le pH (25 mcg/ml pour le S. Aureus, 1,5 mcg/ml pour le E. Coli, 12,5 mcg/ml pour le P. Aeruginosa).

Tableau n° XXXIV

Influence de la constitution du milieu, du pH du milieu, de l'inoculat sur l'activité bacteriostatique de l'ACIDE PIPEMIDIQUE sur 3 germes, exprimée en C.M.I. (40)

Factor	MIC (mcg/ml)		
	3 germes :		
	<i>S. aureus</i> Terajima	<i>E. coli</i> K-12	<i>P. aeru- ginosa</i> Tsuchi- jima
Horse serum ^a (%)			
0	25	1.56	12.5
40	25	1.56	12.5
Sodium cholate ^a (%)			
0	50	1.56	25
1	50	1.56	25
5	50	1.56	50
<u>Medium pH^a</u>			
6.0	25	1.56	12.5
6.5	25	1.56	12.5
7.0	25	1.56	12.5
7.5	25	1.56	12.5
8.0	25	1.56	12.5
Inoculum ^a (cells/tube)			
2 × 10 ⁸	12.5	0.78	6.25
2 × 10 ⁷	25	0.78	6.25
2 × 10 ⁶	25	1.56	12.5
2 × 10 ⁵	25	1.56	12.5
2 × 10 ⁴	25	1.56	12.5
2 × 10 ³	50	1.56	25
2 × 10 ²	100	3.13	25
2 × 10 ¹	>100	3.13	50

^a Broth dilution method.

^b Agar dilution method.

TABLEAU N° XXXV

Schema récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'Activité Bacteriostatique et Bactericide de l'ACIDE PIPEMIDIQUE selon son pH optimum d'action

GERMES	ACTIVITE			pH optimum d'action (*)	AUTEURS
	in vitro		in vivo		
	stase	cidie			
G. divers	?	?		indifférent	De Lajudie(1974)
	?	?		indifférent	Tacquet (1976)
Staphyl. Au.	.			indifférent	Shimizú (1975)
E. Coli	.			indifférent	"
Pseud. Aeru.	.			indifférent	"

(*) les valeurs de pH sont considérées comme :

- . acides pour des pH $\leq 6,5$
- . basiques pour des pH = 7
- . neutres pour des pH $\geq 7,5$

En somme, malgré un manque de détails sur les expériences, comme l'indique le tableau n° XXXIV, tous les auteurs sont d'accord pour ne pas trouver d'influence du pH sur l'activité de l'Acide Pipemidique.

L'Acide Oxolinique - UROTRATE^r

Cette quinolone a été produite par les laboratoires Substantia : l'Acide Oxolinique ou Urotrate^r. Cet agent antibactérien est intéressant pour sa grande activité bactériologique, surtout vis-à-vis du Proteus, et même du Staphylocoque ; et pour sa facilité d'emploi : 2 comprimés par jour.

Nous avons réuni à son propos deux articles américains de Lundbeck (25) et ses collaborateurs publiés en 1965. Le premier article est une étude générale du produit comparée à l'Acide Nalidixique. Entre autres, les auteurs ont recherché l'activité bactériostatique des produits en fonction du pH, par détermination des C.M.I.

Trois germes : E. Coli, Proteus Morganii et Klebsiella Pneumoniae sont ensemencés à raison de 10^6 germes/ml, en milieu liquide (Difco), ajusté aux pH 6,5 et 7,5 et incubés à 35° pendant 18 heures. Il ressort que :

- l'Acide Oxolinique est 10 à 40 fois plus actif que l'Acide Nalidixique avec des C.M.I. telles que :

	<u>Coli</u>	<u>Proteus</u>	<u>Klebsiella</u>
ACIDE OXOLINIQUE :			
C.M.I. (mcg/ml)	1,6	0,4	0,4

- aucune différence significative des valeurs de C.M.I. n'a été trouvée entre pH 6,5 et 7,5.

TABLEAU N° XXXVI

Schema récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'Activité Bacteriostatique et Bactericide de l'ACIDE OXOLINIQUE selon son pH optimum d'action

GERMES	ACTIVITE			pH optimum d'action (*)	AUTEURS
	in vitro		in vivo		
	stase	cidie			
E. Coli	.			indifférent	Lundbeck (1965)
Proteus	.			indifférent	"
Klebsiella	.			indifférent	"
G. divers			.	indifférent	Ghatikar (1974)

(*) les valeurs de pH sont considérées comme :

- . acides pour des pH $\leq 6,5$
- . neutres pour des pH = 7
- . basiques pour des pH $\geq 7,5$

Le deuxième article concerne la solubilité moyenne de l'Acide Oxolinique dans un filtrat d'urine humaine stérile à 37° avec un pH variant de 4 à 7. Les résultats suggèrent la possibilité d'une solubilité maximum à des valeurs de pH de 4 à 6 et des doses de 20 à 40 mcg/ml.

K. N. Ghatikar en 1974 (50), fait une étude in vivo sur 290 patients infectés urinaires, l'activité antibactérienne de l'Acide Oxolinique étant suivie par compte de germes dans les urines, avant, pendant, et après le traitement. Une seule phrase dans la discussion fait intervenir le pH, signalant qu'une acidification ou une alcalinisation des urines ne changent pas les résultats.

Ainsi, là encore, tous les auteurs trouvent un pH optimum d'action indifférent vis-à-vis de l'Acide Oxolinique comme l'indique le tableau n° XXXV.

En résumé, dans la littérature, on retrouve un pH optimum d'action à pH acide pour la bactériostase en ce qui concerne l'Acide Nalidixique. La seule étude de bactéricidie effectuée avec ce produit ne montre aucun rôle du pH. Les deux autres quinolones, acide Pipemidique et Oxolinique, montrent un pouvoir bactériostatique indifférent aux variations du pH. Il est difficile d'opposer ces résultats à ceux de notre étude, étant donné le peu de précisions obtenues, comme nous l'avons plus haut au cours des recherches bibliographiques réunies sur les trois quinolones.

Pour nos résultats, on peut constater une régularité dans les variations d'activité en fonction du pH. L'étude bactériostatique a été faite sur un grand nombre de germes dans des conditions identiques avec les mesures sur les trois produits à chaque pH menées parallèlement. Les expériences ont d'ailleurs été renouvelées devant les résultats non concordants pour la bactériostase et la bactéricidie de l'Acide Nalidixique. L'étude bactéricide, bien que faite sur deux souches seulement, donne des chiffres assez concordants avec les deux méthodes utilisées. La méthode millipore utilisée pour les trois produits a apporté des mesures précises dans le compte de germes.

Mais comment expliquer ces résultats en fonction du pH ? Cet effet du pH sur la bactériostase et la bactéricidie peut découler d'une action de la concentration en ions H^+ à 3 niveaux différents :

Action sur l'antibiotique.

Selon le pH, les molécules du médicament, peuvent avoir les sites responsables de l'effet antibiotique dans un état plus ou moins activé.

Action sur la pénétration de l'antibiotique dans la bactérie

Par ailleurs, le pH en modifiant l'ionisation du médicament peut de cette façon agir sur sa pénétration dans les cellules bactériennes. Sabath et Hofmann (37) établissent en 1975 une relation entre le degré d'ionisation de certains antibiotiques et leur activité antibactérienne. A pH basique, une diminution du pourcentage de la forme ionisée entraîne un accroissement de l'activité antibiotique. Il semblerait que les molécules neutres, non ionisées pénétreraient plus facilement la membrane lipoprotéique de la cellule bactérienne. Ce qui est impor-

tant pour les antibiotiques dont l'action se passe à l'intérieur de la cellule (au niveau de l'ADN pour les quinolones comme nous le verrons plus loin). Les quinolones sont des acides faibles dont le pH alcalin diminue fortement la forme dissociée, donc favorise la pénétration de la membrane cellulaire.

Action sur la bactérie.

Nous savons que le pH acide ralentit la pousse bactérienne. Le principe de la bactériostase étant un ralentissement de la croissance bactérienne, nous pourrions penser qu'existe une synergie entre effet du pH et action du médicament. C'est ce que nous avons retrouvé pour l'Acide Nalidixique mais non pour les deux autres quinolones. En fait, un pH basique favorise la croissance bactérienne, donc favorise l'action bactericide des antibactériens agissant sur les bactéries en phase de multiplication. Or, les trois quinolones agissent sur les bactéries en croissance et donnent donc des résultats analogues.

Cette famille d'antibactériens semble agir essentiellement au niveau des acides nucléiques ainsi que nous avons pu le retrouver dans la littérature. Le mécanisme d'action de l'Acide Nalidixique, premier représentant du groupe a été le plus étudié. C. J. Soussy, J. F. Acar et leurs collaborateurs (43) ont comparé récemment en juillet 1977, l'activité antibactérienne de six quinolones. Dans l'introduction, ils signalent que l'Acide Nalidixique agit sur la synthèse des acides nucléiques en inhibant à la fois celle de l'ADN et de l'ARN, ces deux actions étant indépendantes. A doses assez faibles, il inhibe surtout la synthèse de l'ADN ; à doses plus fortes, c'est l'action sur la synthèse de l'ARN qui est prédominante, par inhibition de la production d'ARN messager avec pour conséquence une inhibition de la synthèse protéique. Ainsi de façon paradoxale, à fortes concentrations d'antibiotiques, l'effet bactéricide est moins prononcé qu'à

doses faibles qui agissent préférentiellement sur la synthèse de l'ADN.

William Goss et Thomas Cook (16) approfondissent en 1976 cette notion d'action sur l'ADN. L'analyse chimique des constituants cellulaires des bactéries traitées à l'acide Nalidixique montrent un déficit de la synthèse de l'ADN avec un respect de la synthèse de l'ARN et des protéines. Cette inhibition sélective est confirmée par les techniques radio-isotopiques. On a pu ainsi prouver que l'Acide Nalidixique empêchait l'incorporation de la thymine dans l'ADN et d'une façon très minime, l'incorporation de l'arginine dans les protéines et de l'uracile dans l'ARN. Par ailleurs, il est intéressant de noter que cet effet inhibiteur peut être reversé par simple lavage des cultures traitées par l'antibiotique ; suggérant que le produit n'est pas solidement fixé sur les sites où il agit.

On retiendra donc une action immédiate, sélective, et réversible sur la synthèse de l'ADN, induisant un ralentissement de la croissance et non une action bactéricide à ce niveau. Mais par quels mécanismes ? Certains auteurs comme Pedrini (*) et Schaller (*) en 1972 suggèrent une interaction de l'Acide Nalidixique avec le complexe membrane cellulaire - ADN. Le produit agirait sur l'attachement de l'ADN au niveau de la membrane cellulaire. Peut-on faire intervenir le rôle du pH à ce niveau ?

Nous retrouvons un peu les mêmes notions sur l'action de l'Acide Oxolinique, au cours d'une étude faite en 1968 par R. Pianotti (32) et ses collaborateurs. Cette quinolone inhibe spécifiquement la synthèse de l'ADN (au niveau de l'incorporation de la thymidine). Il n'est pas noté d'inhibition de la synthèse de l'ARN, des protéines et des lipides. Aucun effet n'est noté sur l'intégrité de la membrane cellulaire qui conserve la même résistance à la pression osmotique.

(*) auteurs cités dans l'article de W. Goss (16)

Il ne semble pas y avoir un complexe Acide Oxolinique - ADN. En effet, l'apport d'ADN exogène dans le milieu de culture ne modifie pas l'action du produit vis-à-vis de la bactérie. Enfin, l'apport d'ions Mg^{++} dans ce même milieu de culture élève les concentrations minima inhibitrices, donc diminue l'action bactériostatique du produit ; le mécanisme supposé se situerait au niveau du noyau pyridine par transformation de sites actifs en sites inactifs. Faut-il là encore supposer un rôle similaire du pH.

En conclusion, il est difficile d'interpréter le rôle du pH sur le mécanisme d'action exact des quinolones. On peut supposer une influence de ce pH à deux niveaux :

- un pH basique favorise la pénétration des quinolones dans la bactérie, par diminution du degré d'ionisation du produit. En considérant les trois formules chimiques, celle de l'Acide Nalidixique serait la plus simple, et la moins ionisée, donc peut-être moins sensible aux variations de pH que les deux autres au niveau de la pénétration dans la cellule.
- au niveau du mécanisme d'action sur la bactérie elle-même, l'effet bactériostatique, réversible sur l'ADN est maintenant connu. L'effet bactéricide est difficile à expliquer. Pourquoi n'existerait-il pas un pH optimum d'action bactériostatique à l'intérieur de la cellule qui serait différent du pH optimum de pénétration du produit dans la cellule, ce dernier étant un pH acide en l'occurrence.

L'action finale de l'antibiotique sur la bactérie serait la résultante de ces deux phénomènes faisant intervenir un pH optimum différent. Pour l'Acide Nalidixique, l'action à l'intérieur de la bactérie (sur l'ADN) plus nette à pH acide, serait plus importante que la pénétration de l'antibiotique dans la cellule plus nette à pH alcalin ; et inversement pour l'Acide Pipemidique et Oxolinique.

	pH optimum BASIQUE 		pH optimum ACIDE
	pénétration dans la cellule	MEMBRANE	cellule (action sur l'ADN)
.Acide Nalidixique	++		++++
.Acide Pipemidique	++++		++
Acide Oxolinique			

Quoiqu'il en soit, du point de vue pratique de la thérapeutique, il faut obtenir la bactéricidie la plus importante, donc pour les trois quinolones, augmenter le pH urinaire (le pH urinaire moyen est à 6).

Pour les autres antibiotiques, l'attitude pratiquée sera différente selon les produits. Rappelons-le (cf. Chapitre II) :

- un pH acide semble plus favorable à l'activité bacteriostatique et bactericide, in vivo et in vitro, des Ampicillines, de la Carbenicilline, de la Novobiocine, de la Nitro-Furantoïne, des Tetracyclines ;
- un pH 7 et 8 semble plus favorable à l'activité bacteriostatique et bactericide de la Streptomycine (sur l'E. Coli seulement) de la Kanamycine, de la Gentamycine; à l'activité bacteriostatique (seule étudiée) de la Tobramycine, de l'Erythromycine.
- les Cephalosporines, le Chloramphenicol, montrent une certaine indifférence vis-à-vis du pH du milieu.
- pour d'autres classes d'antibiotiques bactéricides pourtant couramment utilisés en pathologie urinaire, tels les Pénicillines, les Polymyxines, nous ne retrouvons pas de résultats concordant selon les auteurs, selon les germes... Les uns trouvent une action maximale très nette à pH acide, les autres à pH alcalin, pour un même antibiotique, malgré des méthodes expérimentales apparemment

fiables et précises. Ainsi le Streptocoque est plus sensible à la Pénicilline in vivo, in vitro, en bactériostase, en bactéricidie, à pH acide pour Mou en 1962 (30) et à pH basique pour Brumfitt (7) la même année. De même, au cours des d'expériences identiques, in vivo et in vitro, Brumfitt et Percival trouvent un pH optimum d'action basique pour l'E. Coli et acide pour le Streptocoque Faecalis.

- enfin, dans aucune classe d'antibiotiques, ne ressort un pH optimum contraire pour l'activité bacteriostatique et l'activité bactericide comme nous l'avons trouvé pour l'Acide Nalidixique.

Une fois de plus, il est difficile d'expliquer l'influence du pH sur le mécanisme d'action des différents antibiotiques. On peut essayer de classer les diverses familles d'antibiotiques selon leur mode d'action :

- 1) Altération de la paroi bactérienne : - Pénicillines
- Cephalosporines
- Novobiocine.

Ces antibiotiques agissent en masquant certains sites enzymatiques empêchant la croissance de la paroi en épaisseur ou en longueur (sans doute par analogie structurale).

- 2) Altérations de la membrane cytoplasmique : - Colimycine
- Polymyxine B

Ces antibiotiques se fixent électivement sur la membrane au niveau des phospholipides. Cette membrane se constitue de trois couches : une couche lipidique comprise entre deux couches protéiques. Les Polymyxines sont des polipeptides qui présentent deux pôles :

- 1'un hydrosoluble qui s'incorpore à une couche protéique,
- 1'autre liposoluble qui s'infiltré dans la couche lipidique. La membrane ainsi dénaturée devient perméable.

3) Altérations dans la construction de la chaîne peptidique

- Tetracyclines
- Chloramphenicol
- Macrolides
- Furadantoines,

L'action se situe au niveau du ribosome ; soit par formation d'un complexe antibiotique - ion métallique (Magnésium) empêchant la fixation de l'ARN transfert sur l'ARN messager (CYCLINES) ; soit par fixation sur le ribosome 50S empêchant la fixation des acides aminés entre eux ; soit en empêchant la fixation de l'acide aminé de l'ARN transfert sur la chaîne polypeptidique (MACROLIDES et autres).

4) Anomalies de la lecture du code génétique :

- aminosides ou oligosaccharides.

Ces antibiotiques entravent la lecture du code génétique porté par l'ARN messager au niveau du ribosome aboutissant à des chaînes polypeptidiques anormales. Ils provoqueraient de plus une altération de la membrane cellulaire et des anomalies dans le métabolisme de l'ARN.

5) Inhibition de la synthèse des acides nucléiques :

- les QUINOLONES,
- ainsi que nous l'avons vu plus haut.

Représentons dans la page suivante les différentes classes d'antibiotiques en mettant en parallèle leur mode d'action et leur pH optimum d'action.

Mode d'action	ANTIBIOTIQUES	pH optimum d'action bacterio- statique et bacte- ricide
Altérations de la paroi bactérienne	Pénicillines Ampicillines Cephalosporines Novobiocine	Divers Acide Indifférent Acide
Altérations de la membrane cyto- plasmique	Colimycine Polymyxine B	Divers "
Altérations dans la construction de la chaîne peptidique	Tetracyclines Chloramphenicol Erythromycine Furadantoine	Acide Indifférent Basique Acide
Anomalies dans la lecture du code génétique	Aminosides	Neutre et Basique
Inhibition de la synthèse des acides nucléiques	Quinolones	Basique Acide pour l'ac- tion bacteriosta- tique de l'AC. NALIDIXIQUE

Ce tableau ne nous permet pas d'établir un rapport précis entre le mode d'action des antibiotiques et le pH du milieu. Nous avons déjà vu qu'un pH basique favorisait la croissance bactérienne. On peut donc supposer qu'il influence les antibiotiques agissant sur la bactérie

en voie de multiplication, c'est-à-dire au niveau de l'ADN comme les quinolones, et au niveau des ribosomes et des ARN comme les aminosides.

Un autre effet du pH sur l'antibiotique avait été mentionné lors de l'étude des quinolones. Il s'agit du degré d'ionisation de ces produits variant avec le pH. Sabath et Hofmann (37) établissent en 1975, une relation entre le degré d'ionisation de certains antibiotiques et leur activité antibactérienne. A pH basique, une diminution du pourcentage de la forme ionisée entraîne un accroissement d'activité antibiotique. Il semblerait que les molécules neutres, non ionisées, pénétreraient plus facilement la membrane lipoprotéique de la cellule bactérienne ; ce qui est important pour les antibiotiques dont l'action se passe à l'intérieur de la cellule bactérienne, comme les Aminosides et l'Erythromycine. Alors que pour les antibiotiques dont le site d'action est la paroi bactérienne comme les Ampicillines et la membrane cytoplasmique comme les Polymyxines, la charge électrique et l'impossibilité de pénétrer la cellule n'affecte pas leur action. Woodruff (46) avait déjà cette notion en 1961 à propos de la Nitrofuradantoine qui a une action au niveau des ribosomes. Celle-ci est un acide faible dont le pH alcalin diminue la forme dissociée, donc favorise la pénétration de la membrane cellulaire.

Ainsi dans l'étude de l'influence du pH sur l'activité antibactérienne, il faudra tenir compte de son rôle à deux niveaux :

- au niveau du mécanisme d'action de l'antibiotique (sur la membrane ou à l'intérieur de la cellule : ribosomes, ADN...)
- au niveau du degré d'ionisation de l'antibiotique permettant ou non sa pénétration dans la cellule.

Un pH basique en augmentant le nombre de molécules neutres de produit favorisera l'action des antibiotiques

agissant sur les ribosomes, l'ARN et l'ADN, tels que : les Aminosides, l'Erythromycine, les Quinolones, dont le pH optimum d'action est retrouvé régulièrement basique ou neutre dans les tableaux récapitulatifs (à l'exception bien entendu de l'Acide Nalidixique).

Le pourcentage d'ionisation importe moins pour les autres antibiotiques dont l'action se situe sur la membrane bactérienne :

- . les Ampicillines au pH optimum d'action acide,
- . les Pénicillines aux pH optimums d'action très variés,
- . Les Cephalosporines dont l'action est indifférente au pH,
- . les Polymyxines aux pH optimums d'action très variés.

D'autres phénomènes mal connus doivent intervenir dans l'influence du pH sur l'action anti-bactérienne des antibiotiques. Quoiqu'il en soit, en ce qui concerne notre étude des Quinolones, nous retiendrons que tout concorde (hormis l'activité bacteriostatique de l'Acide Nalidixique) pour retenir un pH optimum basique tant en bacteriostase qu'en bactericidie. Tous les auteurs cependant, ayant fait des recherches à ce sujet sont d'accord pour trouver un pouvoir bacteriostatique et bactericide indifférent aux variations du pH.

L'intérêt général de cette mise au point est de déboucher sur des conclusions pouvant être utilisées en pratique clinique courant. Le but d'un traitement antibiotique dans la sphère urinaire est d'obtenir une activité bactericide maximum (c'est-à-dire la destruction totale des germes) dans des conditions in vivo, en s'aidant de moyens de référence simples in vitro.

- In vivo, il s'agira d'obtenir la concentration et l'action idéales dans le milieu urinaire qui est un milieu très variable, au contraire des milieux tissulaires et sanguins. Le pH urinaire peut varier de 4,5 à 8,5, le pH moyen étant 6. Il faudra tenir compte de l'élimination

et de la concentration urinaire du produit sous forme active, de la qualité du filtre et du tubule rénaux ; également du type de l'atteinte : tissu rénal et voies urinaires. En effet, C. J. Soussy et J. F. Acar (48) en 1977, au cours de l'étude des six quinolones, notent des discordances de résultats in vitro et in vivo. In vitro, l'Acide Oxolinique montre une activité bactériostatique et bactericide supérieure à l'Acide Nalidixique et Pipemidique (comme nous l'avons d'ailleurs trouvé au cours de nos expériences). Mais en mesurant le pouvoir inhibiteur des urines après absorption d'une dose unitaire des différentes drogues correspondant à leur posologie habituelle, il semble que ce soit l'Acide Pipemidique qui ait une activité supérieure. L'Acide Oxolinique, le moins actif, est transformé en fortes proportions en dérivés glycuco-conjugués inactifs et a une durée d'action plus courte.

In vitro, les moyens simples de référence et de surveillance seront l'antibiogramme, les comptes de germes ; la mesure du pouvoir bactéricide des urines est un examen déjà plus spécialisé. La sensibilité d'un germe testée par antibiogramme, permet de guider le choix d'un antibiotique ; mais les recherches sont faites dans des conditions standard de bactériostase à pH aux environs de 7.

Il peut parfois être utile de connaître le pH optimum d'action de certains ~~grands~~ antibiotiques dans les infections urinaires chroniques. L'alcalinisation et l'acidification des urines sont peu astreignantes pour le malade, faciles à suivre par la mesure au papier pH-Liphan.

- L'alcalinisation se fera par : du bicarbonate de soude, de l'eau de Vichy (3,6 g de bicarbonate de soude /litre), de la Citrosodine^r (4 à 6 c. à c./j), Foncitril 4000^r (2 à 4 sachets/j), Alcaphor^r (3 c. à S./j) qui a l'avantage de ne pas contenir de sodium.

- L'acidification se fera par de l'Ultraphos^r (2 amp/j), de la Laroscorbine^r, Vitascorbol^r (Vitamine C, 2 à 3 cp/j à 500 mg, Lobamine^r (Methionine, 4 à 6 sachets/j).

En réalité, les problèmes d'infection urinaire chronique sont parfois complexes dans la pratique médicale. La notion de variations d'activité bactéricide des antibiotiques avec le pH, peut aider le médecin praticien.

=====

CONCLUSIONS

C O N C L U S I O N S

=====

Cette étude s'est proposée de rechercher in vitro les conditions d'amélioration du rendement des antibiotiques, plus particulièrement des Quinolones, avec les variations du pH urinaire.

Les données bibliographiques disponibles ont été réunies, concernant les Bétalactamines, les Aminosides, les Tetracyclines, les Macrolides, le Chloramphenicol, les Polymyxines, la Novobiocine, les Nitrofuranes. Un pH urinaire inférieur à 6,5 accroît l'efficacité, tant en bacteriostase qu'en bactericidie, des Ampicillines, de la Carbénicilline, de la Novobiocine, des Nitrofuranes. Un pH urinaire égal ou supérieur à 7 augmente considérablement l'efficacité des Aminosides et le pouvoir bactériostatique de l'Erythromycine. Les Céphalosporines et le Chloramphenicol paraissent insensibles aux variations provoquées du pH. Les résultats précédents ont été confirmés in vivo.

Nous avons effectué une étude expérimentale in vitro sur des milieux tamponnés à pH 5, 6, 7, 8. La bactériostase a été appréciée sur 152 germes Gram (-) (appartenant à 9 espèces différentes) et 20 souches de Staphylocoques ; la bactéricidie sur une souche d'Escherichia Coli et une souche de Proteus Morganii, avec l'Acide Nalidixique, l'Acide Pipemidique et l'Acide Oxolinique. Ces deux derniers antibactériens voient leur efficacité augmenter régulièrement de pH 5 à pH 8, tant en bactériostase qu'en bactéricidie, sauf pour les Moraxellas et les Staphylocoques. Par contre, avec l'Acide Nalidixique, un pH égal à 6 favorise la bactériostase et un pH supérieur

à 7 accélère la bactéricidie. Des trois quinolones étudiées, l'Acide Oxolinique a paru être le plus efficace ; cette efficacité des Quinolones est paradoxalement plus importante à faibles doses.

Nos résultats ne peuvent être comparés avec les données trop fragmentaires de la littérature, sauf en ce qui concerne l'exagération de l'effet bactériostatique de l'Acide Nalidixique en milieu acide. Les mécanismes restent hypothétiques : en pH alcalin, diminution de l'ionisation des Quinolones favorisant leur pénétration à travers la membrane bactérienne ; exagération de la bactériostase par interférence de ces mêmes Quinolones avec la synthèse de l'ADN. Plus généralement, un pH alcalin majore l'activité des antibiotiques qui agissent après avoir pénétré à l'intérieur de la cellule.

Des variations thérapeutiques provoquées du pH urinaire paraissent donc souhaitables chez les patients présentant des infections urinaires sévères et soumis à un traitement par Ampicillines, Nitrofuranes, Aminosides, ou Quinolones.

Vu, le Directeur de l'U.E.R. ALEXIS CARREL
1er Assesseur

Professeur L. ROCHE

Le Président de la Thèse
Professeur B. FRANCOIS

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
LYON, le 12 MAI 1978

Le Président de l'Université Claude Bernard
Professeur D. GERMAIN

BIBLIOGRAPHIE

- B I B L I O G R A P H I E -

- I - ABRAHAM E.P. and DUTHIE E.S.
Effect of pH of the medium on activity of Streptomycine and Penicilline and other chemotherapeutic Substances.
Lancet, 1946, I, p. 455 - 459.

- 2 - ACAR J.F., GOLDSTEIN F.
Dynamique de la bacteriurie dans les infections urinaires traitées par la Gentamycine.
Symposium Gentalline de Palma, 1969, 16-17 octobre, p. 57 - 62.

- 3 - ASSCHER A.W., JOHNSON S.E., SIMON D.A.
Effect of urinary pH on the renal clearance of Cephaloridine.
Postgraduate Med. J., 1970, Supp. 46 (Oct.), p. 55 - 57.

- 4 - BAKKER A.J. and MICHEL M.F.
In vitro activity of Gentamicin against common pathogenic bacteria.
Chemotherapy, 1970, 15, p. 129 - 136.

- 5 - BERGAN T. and BROOWALL E.K.
Kidney transport in Man of Sulfamethoxazole and Trimethoprim.
Chemotherapy, 1972, 17/5, p. 320 - 333.

- 6 - BRITT M.R., GARIBALDI R.A., WILFERT J.N. and SMITH Ch.B.
In vitro activity of Tobramycin and Gentamicin.
Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1972, 2, p. 236 - 241.

- 7 - BRUMFITT W., PERCIVAL A.
Adjustement of urine pH in the chemotherapy of urinary-tract infections. A laboratory and clinical assessment.
Lancet, 1962, I, 7222, p. 186 - 190.

- 8 - CASEY J.I., SABATH L.D., ZINNER S.H. and FINLAND M.
Novobiocin and acidification for treatment of bacteriuria due to gram negative Bacilli.
Antimicrob. Agents and Chemotherapy, 1969, p. 410 - 412.
- 9 - CHABBERT Y.
Alcune Osservazioni sull'attivit  in vitro della Colimicina.
Minerva Medica, 1958, p. 4483 - 4487.
- 10 - C. I.
Importance du pH urinaire dans l'action antibactérienne des Antibiotiques.
Mises   jour : Med. Prat., 1966, 3, p. 246.
- 11 - DEITZ W.H., BAILEY J.H., FROELICH E.J.
In vitro Antibacterial Properties of Nalidixic Acid, a New Drug Active against Gram-Negative Organisms.
Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1963, p. 583 - 587.
- 12 - DE LAJUDIE P. et PATTE Simone.
L'acide pip midique, nouvel antibactérien de synthèse.
J. Pharmacol. Clin., 1974, I, 3, p. 155 - 171.
- 13 - EAGLE H.
The effect of the pH of the medium on the antibacterial of Penicillin, Streptomycine, Chloramphenicol, Bacitracin.
Antibioth. and Chemoth., 1952, 2, p. 563 - 575.
- 14 - FINLAND M. and MURRAY R., HARRIS H., KILHAM I. and HEADS M.
Development of Streptomycin resistance during treatment.
J.A.M.A., 1946, 132, p. 16 - 21.
- 15 - GIAMARELLOU Helen, JACKSON G. G.
Antibacterial Activity of Cinoxacin in vitro.
Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1975, May, 7, 5, p. 688 - 692.

I6 - GOSS W.A. and COOK Th.M.

Nalidix Acid - Mode of action - p. 174 - 196.

In : Antibiotics Vol. III, Mechanism of action of antimicrobial and antitumor agents, J.W. CORCORAN and F.E. HAHN editors - Springer - Verlag Berlin Heidelberg New-York, 1974.

I7 - HAIGHT T.M., FINLAND M.

The antibacterial action of Erythromycin.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1952, 81, p. 175 - 183.

I8 - HARRIS H.W., MURRAY R., PAINE T.F., KILHAM I. and FINLAND M.

Streptomycin treatment of urinary tract infection with special reference to the use of Alkali.

Am. J. Med., 1974, 2, p. 229 - 250.

I9 - IGARI Jun and KOSAKAI Nozomu.

The effect of urine pH on the antibacterial activity of antibiotics and chemotherapeutic agents on Escherichia Coli.

Progress in Antimicrobial and Anticancer.

Chemotherapy, Congress of Tokyo, 1970, p. 365 - 367.

20 - JAFFE J.H., POUST R.I., FELD S.L. and COLAIZZI J.L.

Influence of repetitive dosing and altered urinary pH on Doxycycline excretion in humans.

Journal of Pharmaceutical Sciences, 1974 august, 63, 8, p. 1256 - 1960.

21 - KALMANSON G.M., MONTGOMERIE J.Z. and GUZE L.B.

Influence of the metabolic environment of the kidney on the activity of antibiotics.

Antimicrobial agents and Chemotherapy, 1965, p. 384 - 386.

22 - KLASTERKY J., DEBUSSCHER L.

Effect of adjustement of the pH upon sensitivity of urinary gram-negative Bacilli to nine antibiotics.

Internationale Zeitschrift für Klinische Pharmakologie, therapie und toxikologie, 1970 April, 19, p. 325 - 327.

- 23 - KLASTERYK J., DEBUSSCHER L., DANEAU D.
Effectiveness of Erythromycin plus alcalinization and of Nitrofurantoin in the treatment of urinary tract infections.
Current Therapeutic Research, 1971, vol. 13, n° 7,
p. 427 - 433.
- 24 - LABIA R. et LE GOFFIC F.
Etude de la stabilité chimique et enzymatique de la Metampicilline.
Médecine et maladies infectieuses, 1973, 3, 10, p. 395 - 398.
- 25 - LUNDBECK H. and Co.
Summarizing report on Oxolinic Acid : Covering Lundbeck's experience up to 1 st August 1965.
H. Lundbeck and Co - A 15 - Ottiliavej 7 - Copenhagen - Valby - Denmark 1965 - Confidential - FH/pb, 12, 8, 65, p. 1 - 3.
- 26 - LUNDBECK H. and Co.
Supplementary report on Oxolinic Acid : Covering Lundbeck's experience Aug. 1 - Oct. 1.
H. Lundbeck and Co. A/S - Ottiliavej 7 - Copenhagen-Valby Denmark, 1965 - Confidential - FH/MC, 12, 10, 65, p. 1 - 5.
- 27 - MARIEL G., VEYSSIER P., PECHERE J.C., DE CERNER E.
Urinary pH and excretion of Gentamicine.
British Medical Journal, 13 may, 1972, p. 406.
- 28 - MILNE M.D., SCRIBNER B.H. and CRAWFORD M.A.
Non ionic diffusion and the excretion of weak acids and bases.
Amer. Journal Med., 1958, 24, p. 709 - 729.
- 29 - MORIKUBO Y.
Journal of Ant., 1958, 11, p. 171, série A.
- 30 - MOU T.W.
Effect of urine pH on the antibacterial activity of antibiotics and chemotherapeutic agents.
Journal of Urology, 1962, 87, p. 978 - 987.

- 31 - MURRAY R., FINLAND M.
Effect of pH on Streptomycin activity.
Ann. J. Clin. Path., 1948, 18, p. 212 - 252.
- 32 - PIANOTTI S., MOHAN R., SCHWARTZ B.S.
Biochemical effects of Oxolinic Acid on Proteus Vulgaris.
Journal of Bacteriology, 1968 May, 95, 5, p. 1622 - 1626.
- 33 - PURICH E.D., COLAIZZI J.L. and POUST R.I.
pH-partition behavior of amino acid like Beta-Lactam anti-
biotics.
Journal of Pharmaceutical Sciences, 1973 april, 62, 4,
p. 545 - 549.
- 34 - RITSCHER W.A.
Die bedeutung der biologischen halbwertszeit in der bio-
pharmazie.
Dtsch. Apoth. - Zeitung 1970 - 49, p. 1909 - 1916.
- 35 - ROBINSON G.N. and STEVENS S.
Brit. Med. J., 1961, 2, p. 192.
- 36 - SABATH L.D.
Considérations sur le problème des infections à Pseudomonas
du tractus urinaire. p. 47 - 59.
In : Nouvelles acquisitions dans la thérapeutique des infec-
tions à Pseudomonas et Proteus. Symposium de New York 12 juil-
let 1969. Dr. Harold C. NEU Président et Dr. Claude Mariel ré-
dacteur. Un ouvrage, Excerpta Medica Foundation - 1969.
- 37 - SABATH L.D., HOFFMAN C.
A basis for differences in the effect of ionization on the
antibacterial activity of antibiotics.
Clin. Res., 1975, 23, n° 3, p. 417 A.

- 38 - SCHORTGEN G., TANCREDE C., EVELEIGH M.C. et NEDEY R.
L'acide Nalidixique dans le traitement des infections sévères
à germes gram négatif. p. 320 - 352.
In : Réanimation et Médecine d'Urgence, M. GOULON et M. RAPIN
éditeurs. Un ouvrage, 363 pages, l'Expansion Scientifique
Française, 1973.
- 39 - SHARPSTONE P.
The renal handling of Trimethoprim and Sulphamethoxazole in
man.
Postgrad. Med. J., 1969, 45 : suppl., p. 32 - 37.
- 40 - SHIMIZU Masamao, TAKASE Yoshiyuki and coll.
Pipemidic Acid, a new antibacterial agent active against
Pseudomonas Aeruginosa : in vitro properties.
Antimicrobial agents and chemotherapy, 1975 august, 8, 2,
p. 132 - 138.
- 41 - SIMBERKOFF M.S., M.D., THOMAS L., M.D., Mc GREGOR D., B.S.,
SHENKEIN I., Ph.D. and LEVINE B.B., M.D.
Inactivation of penicillins by carbohydrate solutions at
alkaline pH.
The New England Journal of Medicine, July 1970, 283, 3,
p. 116 - 119.
- 42 - SMITH Ch.B. and FINLAND M.
Carbenicillin : activity in vitro and absorption and excre-
tion in normal youngmen.
Applied Microbiology, Nov. 1968, 16, n° 14, p. 1753 - 1760.
- 43 - SOUSSY C.J., THIBAUT M., KITZIS M.D., ACAR J.F., DUVAL J.
et CHABBERT Y.A.
Activité antibactérienne comparée de six quinolones.
Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur), 1977, 128 B, p. 19 - 33.

- 44 - TALLGRAN G. and VON BONSDORFF G.H.
The effect of varying the pH level upon the sensitivity of urinary bacteria to antibiotics.
Acta Medica Scandinavia, 1965, 178, 5, p. 543 - 551.
- 45 - WATERWORTH Pamela M.
The in-vitro activity of Tobramycin compared with that of other aminoglycosides.
J. Clin. Path., 1972, 25, p. 979 - 983.
- 46 - WOODRUFF M.W., M.D., MALVIN R.L., Ph.D., and THOMPSON I.M., M.D., ANN ARBOR, MICH.
The renal transport of Nitrofurantoin.
Effect of acid-base balance upon its excretion.
J.A.M.A., April 1 1961, 175, 13, p. 1132 - 1135.
- 47 - ZIU H., TEHRANI M. and ZARGARBASKI R.
Kinetics of Carbenicillin degradation in aqueous solutions.
Canadian Journal of Pharmaceutical Sciences, 1974, 9, 4, p. 112 - 117.
- 48 - ZINNER S.H., SABATH L.D., CASEY J.I. and FINLAND M.
Erythromycin plus alcalinization in treatment of urinary infections.
Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1969, p. 413 - 416.
- 49 - ZINNER S.H., SABATH L.D., CASEY J.I. and FINLAND M.
Erythromycin and alkalization of the urine in the treatment of urinary-tract infections due to gram negative Bacilli.
The Lancet, 1971, June 19, p. 1267 - 1268.
- 50 - GHATIKAR K.N.
A multi-centric trial of a new synthetic antibacterial in urinary infections.
Current Therap. Research, 1974, 16, n° 2, p. 130 - 136.

51 - TACQUET A. et collaborateurs.

L'acide Pipémidique en pathologie infectieuse urinaire.

Activité anti-bactérienne et tolérance clinique et biologique.

Sem. Hop. (Paris) Thérapeutique, 1976, n° hors série,
p. 52 - 57.

52 - BERNARD F., MONIER J.L.

Activité bactériostatique et bactéricide de l'acide

Nalidixique ; variations en fonction du pH.

Nouvelle Presse Médicale, 1975, Vol. 4, p. 3197.

-:-:-:-:-:-:-:-

T A B L E A U X

&

F I G U R E S

T A B L E A U X

Tableau I-P. 8 : Activité bactéricide de la Pénicilline en fonction du pH du milieu sur un E. Coli et un Streptocoque Faecalis (21) (KALMANSON 1965).

II-P. II : Schéma récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro, sur l'activité bactériostatique et bactéricide des Pénicillines selon leur pH optimum d'action .

III-P. 13 : Activité bactériostatique, exprimée en diamètres d'inhibition, en fonction du pH, de divers antibiotiques sur différents germes (45) (TALLGREN 1965)

IV-P. 16 : Schéma récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'activité bactériostatique et bactéricide des Ampicillines selon leur pH optimum d'action.

V-P. 18 : Variations d'activité bactériostatique exprimée en C.M.I. de la Carbénicilline en fonction du pH du milieu sur un Pseudomonas Aéruginosa (42) (SMITH 1968).

VI-P. 19 : Schéma récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'activité bactériostatique et bactéricide de la Carbénicilline selon son pH optimum d'action.

- VII - p. 22 : Schéma récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'activité bactériostatique et bactéricide des Céphalosporines selon leur pH optimum d'action.
- VIII - p. 25 : Variations de l'activité bactéricide de divers antibiotiques selon le pH urinaire et selon le germe (30) (MOU 1962).
- IX - p. 27 : Schéma récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'activité bactériostatique et bactéricide de la Streptomycine selon son pH optimum d'action.
- X - p. 30 : Schéma récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'activité bactériostatique et bactéricide de la Kanamycine selon son pH optimum d'action.
- XI - p. 31 : Influence des variations du pH du milieu et de l'importance de l'inoculum sur l'activité bactériostatique (C.M.I.) et bactéricide (C.M.B.) de la Gentamicine vis à vis de 2 E. Coli (4) (BAKKER 1970).
- XII - p. 35 : Schéma récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'activité bactériostatique et bactéricide de la Gentamicine selon son pH optimum d'action.
- XIII - p. 36 : Accroissement de l'activité bactériostatique exprimée en C.M.I.* à pH neutre sur 15 germes Gram (-) (6) (BRITT 1972) * de la Tobramycine.

- XIV - p. 37 : Répartition de 15 cultures microbiennes Gram (-) d'après leur sensibilité à la Tobramycine variant avec le pH du milieu (Etude bactériostatique exprimée en C.M.I.) (6) (BRITT 1972)
- XV - p. 38 : Schéma récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'activité bactériostatique et bactéricide de la Tobramycine selon son pH optimum d'action.
- XVI - p. 41 : Schéma récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'activité bactériostatique et bactéricide des Polymyxines selon leur pH optimum d'action.
- XVII - p. 45 : Schéma récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'activité bactériostatique et bactéricide de l'Erythromycine selon son pH optimum d'action.
- XVIII - p. 49 : Schéma récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'activité bactériostatique et bactéricide de la Novobiocine selon son pH optimum d'action.
- XIX - p. 51 : Schéma récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'activité bactériostatique et bactéricide du Chloramphénicol selon son pH optimum d'action.
- XX - p. 56 : Schéma récapitulatif des données bibliographiques in vivo et in vitro sur l'activité bactériostatique et bactéricide des Tétracyclines selon leur pH optimum d'action.

- XXI - p. 58 : Activité bactéricide de la Nitrofurantoinne
à pH acide et basique sur 4 germes différents
(30) (MOU 1962).
- XXII - p. 59 : Schéma récapitulatif des données bibliogra-
phiques in vivo et in vitro sur l'activité
bactériostatique et bactéricide de la Nitro-
furantoinne selon son pH optimum d'action.
- XXIII - p. 61 : Schéma récapitulatif des données bibliogra-
phiques sur l'activité dynamique in vivo de
l'association Sulfaméthoxazole-Triméthoprim
selon son pH optimum d'action.
- XXIV - p. 73 : Etude du pouvoir bactériostatique de l'Acide
Nalidixique en fonction du pH sur 9 germes
Gram (-) (selon la mesure des diamètres
d'inhibition).
- XXV - : Etude du pouvoir bactériostatique exprimé en
(a) - p. 75 C.M.I. de l'Acide Nalidixique en fonction de
(b) - p. 76 4 pH sur 172 germes.
(c) - p. 77
- XXVI - : Etude du pouvoir bactériostatique exprimé en
(a) - p. 78 C.M.I. de l'Acide Pipémidique en fonction de
(b) - p. 79 4 pH sur 172 germes.
(c) - p. 80
- XXVII - : Etude du pouvoir bactériostatique exprimé en
(a) - p. 81 C.M.I. de l'Acide Oxolinique en fonction de
(b) - p. 82 4 pH sur 172 germes.
(c) - p. 83
- XXVIII - p. 88 : Activité bactéricide de l'Acide Nalidixique
en fonction du pH sur un E. Coli.
- XXIX - p. 90 : Activité bactéricide de l'Acide Nalidixique
en fonction du pH sur un Protéus Morganii.

- XXX - p. 96 : Activité bactéricide de 3 Quinolones
(Acide Nalidixique, Pipémidique, Oxolinique)
en fonction du pH du milieu sur un *Protéus*
Morganii (Méthode Millipore).
- XXXI - p. 97 : Activité bactéricide de 3 Quinolones
(Acide Nalidixique, Pipémidique, Oxolinique)
en fonction du pH du milieu sur un *E. Coli*.
(Méthode Millipore).
- XXXII -p.I02 : Activité bactériostatique exprimée en C.M.I.
de l'Acide Nalidixique en fonction du pH sur
un *E. Coli* (32) (DEITZ 1963).
- XXXIII - p.I04 : Schéma récapitulatif des données bibliogra-
phiques in vivo et in vitro sur l'activité
bactériostatique et bactéricide de l'Acide
Nalidixique selon son pH optimum d'action.
- XXXIV - p.I06 : Influence de la constitution du milieu, du pH
du milieu, de l'inocula sur l'activité bacté-
riostatique exprimée en C.M.I. de l'Acide Pipémidique
sur 3 germes (*S. Auréus*, *E. Coli*, *P. Aéruginosa*)
(40) (SHIMIZU 1975).
- XXXV - p.I07 : Schéma récapitulatif des données bibliogra-
phiques in vivo et in vitro sur l'activité
bactériostatique et bactéricide de l'Acide
Pipémidique selon son pH optimum d'action.
- XXXVI - p.I09 : Schéma récapitulatif des données bibliogra-
phiques in vivo et in vitro sur l'activité
bactériostatique et bactéricide de l'Acide
Oxolinique selon son pH optimum d'action.

F I G U R E S

- Figure 1 - p. 7 : Activité bactériostatique des Pénicillines à 3 pH différents sur l'Entérocoque classé de I à IV selon son degré de sensibilité au produit (mesure des diamètres d'inhibition) (44) (TALGREN 1965).
- 2 - p. 21 : Activité bactéricide de la Céphaloridine selon le pH sur un E. Coli (I9) (IGARI 1970)
- 3 - p. 24 : Activité bactéricide de la Streptomycine et de la Tétracycline en fonction du pH urinaire sur un E. Coli (7) (BRUMFITT 1962)
- 4 - p. 26 : Activité bactéricide de la Streptomycine selon le pH sur un E. Coli (I9) (IGARI 1970).
- 5 - p. 33 : Influence du pH urinaire vis à vis de l'activité in vivo de la Gentamicine sur un Serratia (2) (ACAR 1969)
- 6 - p. 40 : Activité bactéricide de la Polymyxine B en fonction du pH du milieu sur un E.Coli (I9) (IGARI 1970).
- 7 - p. 44 : Activité bactéricide de l'Erythromycine en fonction du pH du milieu sur un E. Coli (I9) (IGARI 1970).
- 8 - p. 47 : Activité bactériostatique de la Novobiocine en fonction du pH sur 30 souches de P. Aéruginosa (mesure des C.M.I.) (36) (SABATH 1969).

- 9 - p. 50 : Activité bactéricide du Chloramphenicol en fonction du pH du milieu sur un E. Coli (I9) (IGARI I970).
- 10 - p. 55 : Activité bactéricide de la Tétracycline en fonction du pH du milieu sur un E. Coli (I9) (IGARI I970).
- II - p. 89 : Histogramme de l'activité bactéricide de l'Acide Nalidixique en fonction du pH du milieu sur un E. Coli
- 12 - p. 9I : Histogramme de l'activité bactéricide de l'Acide Nalidixique en fonction du pH du milieu sur un Protéus Morganii.
- 13 - p. 98 : Histogramme de l'activité bactéricide de l'Acide Nalidixique en fonction du pH sur un E. Coli et un P. Morganii (Méthode Millipore)
- 14 - p. 99 : Histogramme de l'activité bactéricide de l'Acide Pipémidique en fonction du pH sur un E. Coli et un P. Morganii (Méthode Millipore).
- 15 - p.I00 : Histogramme de l'activité bactéricide de l'Acide Oxolinique en fonction du pH sur un E. Coli et un P. Morganii (Méthode Millipore).

